Reduktion und alkoholische Gärung.

Von **Herbert Stange** †.

(Aus dem physikalisch-chem. Institut der Universität Leipzig.)

Einleitung.

Reduktionsprozesse sind in der ganzen Welt der Organismen weit verbreitet. Besonders auffällig tritt die Fähigkeit, geeignete Stoffe zu reduzieren, bei den Mikroorganismen hervor.

Solche Reduktionserscheinungen sind schon füher gelegentlich beobachtet, aber erst in neuerer Zeit eingehender untersucht worden. Helmholtz[1]) ist wohl der Erste gewesen, der von einer Entfärbung des Lackmusfarbstoffes durch Bakterien berichtet. Bei diesen Organismen haben die reduzierenden Eigenschaften eine größere Bedeutung dadurch erlangt, daß sie zur Erkennung und Identifizierung der Bakterien Verwendung gefunden haben[2]).

Für die Hefe, deren Reduktionswirkungen Gegenstand vorliegender Arbeit sein sollen, liegt schon eine große Anzahl von Arbeiten vor, die unter den verschiedensten Gesichtspunkten auf die Erforschung der Reduktionserscheinungen gerichtet sind. Hier berichtet Neßler[3]) zuerst das Auftreten von Schwefelwasserstoff bei der Weingärung. De Rey-Pailhade[4]) gelang es dann, den reduzierenden Stoff von der Zelle zu trennen, indem er einen alkoholischen Extrakt durch Digerieren von Preßhefe mit Alkohol herstellte, der die Eigenschaft hatte, Schwefel zu Schwefelwasserstoff zu reduzieren, Indigkarmin und Lackmus zu entfärben. Den reduzierenden Stoff nannte er „Philothion" und untersuchte die Bedingungen und Grenzen seiner Wirksamkeit näher. Nach der Entdeckung und Darstellung des Hefepreßsaftes durch Eduard

[1]) Helmholtz, Über das Wesen der Fäulnis und Gärung (Diss.). Journ. f. prakt. Chem. **31**, 1844, S. 429.

[2]) Literatur hierüber s. Wolff, Baumgartens Arb. a. d. path. Inst. Tübingen **3**, S. 294; Klett, Zeitschr. f. Hygiene **33**, S. 137; Wichern, Arch. f. Hygiene **72**, S. 1.

[3]) Neßler, Die Bereitung, Pflege und Untersuchung d. Weines. I. Aufl., 1869.

[4]) De Rey-Pailhade, C. Rend. **106**, 1683, Bull. Soc. chim. Sér. III **3**, 1890, S. 171.

Buchner wurde auch für diesen, wie zu erwarten war, die Fähigkeit, Reduktionserscheinungen hervorzurufen, gefunden, und zwar durch Wroblewski[1]). Besonders hat sich Hahn[2]) damit beschäftigt, der zu dem Resultat kommt, daß die Reduktion des Schwefels und die des Methylenblaus durch Preßsaft nicht in Parallele gesetzt werden können, und daß letztere einen enzymatischen Charakter besitzt.

Wichtiger sind aber nun die Beobachtungen und Versuche, welche, die Beziehungen zwischen den Reduktions- und Gärungserscheinungen betreffen. Pfeffer[3]) hat schon vor langer Zeit die Beobachtung gemacht, daß eine Reduktion des Methylenblaus und Indigos durch lebende Hefe nur bei Ausübung der Gärtätigkeit stattfindet. Wenn Hefe mit Milchzucker ernährt wurde, trat keine Reduktion von Methylenblau ein. Pozzi-Escot[4]) wies dann auf die Möglichkeit enger Beziehungen zwischen dem Gärungsenzym und dem Philothion hin. Grüß[5]) gelangte ebenfalls zu dieser Ansicht auf Grund eines Versuches, bei dem er den gebildeten Alkohol (aber nicht die Kohlensäure) bestimmte. Er fand bei Anwesenheit von Schwefel 4 Volumprozent Alkohol gegenüber 5 Volumprozent bei dem Kontrollversuch ohne Schwefel. Aus diesem Resultat zog Grüß den Schluß, daß der Wasserstoff, der bei der Gärung intermediär entstehen und normaler Weise zur Bildung des Alkohols Verwendung finden soll, bei Zusatz von Schwefel diesen reduziere und damit für die Alkoholproduktion verloren gehe. Auf diese Anschauung gründet er seine Hypothese des Zuckerzerfalls bei der Gärung.

Auf anderem Wege suchte Palladin[6]) der Lösung des Problems näherzukommen. Er prüfte den Einfluß des Zuckerzusatzes auf die Reduktion von Natriumselenit und Methylenblau durch Dauerhefe und fand, daß bei Anwesenheit von Glukose (also bei Gärung) die Menge des reduzierten Selens viel geringer war, bezw. daß die Entfärbung von Methylenblau längere Zeit in Anspruch nahm, als dann, wenn kein Zucker vorhanden war. Er erklärt dies durch das Wahlvermögen der (toten) Dauerhefe; Methylenblau und Natriumselenit würden bei Abwesenheit von Zucker als Nahrungsquellen nutzbar gemacht, bei Anwesenheit von Zucker sei dieser der bessere Nährstoff, Natriumselenit

---

[1]) Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. **31**, 3, 1898, S. 3218.

[2]) Buchner u. Hahn, Zymasegärung, S. 341 ff.

[3]) Pfeffer, Beitr. z. Kenntn. d. Oxydationsvorgänge an lebenden Zellen. Abh. d. Math. phys. Cl. d. Kgl. Sächs. G. d. W. XV **5**, S. 471, 512.

[4]) Pozzi-Escot, The reducing enzymes, Americ. Chemical Journ. **29**, 1903, S. 517 ff.

[5]) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **27**, 1904, S. 737.

[6]) Zeitschr. f. physiolog. Chemie **56**, 1908, S. 83.

bezw. Methylenblau würden dann nicht oder in geringerem Maße verwertet. Palladin schließt hieraus, daß eine Redukase am Gärungsprozeß beteiligt sei.

Dies sind die wesentlichsten Beobachtungen, welche die Beziehungen der Reduktionserscheinungen zu dem Gärungsprozeß beleuchten.

Theorien über den Zerfall des Zuckers bei der alkoholischen Gärung.

Schon vor Buchners bedeutsamer Entdeckung hatte A. von Baeyer[1]) eine Hypothese aufgestellt, nach der bei der Vergärung von Zucker zuerst durch Aus- und Eintritt von Wasser eine Akkumulation von Sauerstoff in der Mitte und dann als Folge davon eine Sprengung der Kohlenstoffkette stattfinde. Auf diese Weise soll zunächst das Anhydrid der Milchsänre und durch nochmalige zweifache Sprengung der C-Kette das Anhydrid der Äthylkohlensäure entstehen. von Baeyer stützt diese Hypothese durch Analogien mit anderen wohlbekannten Prozessen. Tatsächlich glaubten Buchner und viele andere[2]) lange Zeit, in der von Baeyer vorausgesagten Milchsäure das gesuchte Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung gefunden zu haben, bis sich schließlich herausstellte, daß die als Analoga herangezogenen nicht enzymatischen Zuckerspaltungen, bei denen Milchsäure entsteht, oxydative Prozesse sind, die mit der Gärung nicht in Parallele gesetzt werden können[3]). Auch konnte bei Versuchen mit lebender Hefe weder Bildung noch Vergärung der Milchsäure beobachtet werden[4]). Die Milchsäure wurde in ihrer Rolle als hypothetisches Zwischenprodukt abgelöst durch das Dioxyazeton[5]), das auch, wie Buchner[6]) und v. Lebedeff[7]) neuerdings gezeigt haben, durch den Preßsaft vergoren werden kann. Auch Methyl-

[1]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **3**, 1870, S. 63ff.

[2]) Ahrens, Z. f. angew. Chem., 1900, S. 483; Meisenheimer, Z. f. phys. Chem. **37**, 1903, S. 526; Stoklasa u. Czerny, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **36**, S. 4068; Buchner u. Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **37**, 419; **38**, 620; Windaus u. Knoop, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **38**, S. 1167; Erlenmeyer jr., Journ f. prakt. Ch. **71**, S. 384; Buchner u. Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **39**, S. 3200; Landw. Jahrb. **38**, Ergänz.-Bd. 5, S. 265 ff.

[3]) Buchner, Meisenheimer u. Schade, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **39**, S. 4217.

[4]) Buchner u. Meisenheimer, Über die Rolle der Milchsäure bei der alkoholischen Gärung. Landw. Jahrb. **38**, Erg.-Bd. 5, S. 265.

[5]) Bertrand, Ann. chim. Phys. **3**, S. 256; Greman, C. Rend. **104**, S. 1277; Piloty, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **30**, S. 3666; Emmerling **32**, S. 542.

[6]) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **43**, S. 1781.

[7]) Comptes Rendus **153**, S. 136; Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **44**, S. 2935.

glyoxal und Glyzerinaldehyd wurden als Zwischenprodukte vermutet. Doch konnte noch für keinen dieser Körper die Bildung bei der alkoholischen Gärung nachgewiesen werden.

Harden und Young[1]) haben gefunden, daß für die Gärung die Anwesenheit von Phosphaten notwendig ist. Es stellte sich heraus, daß diese mit dem Zucker Hexosephosphorsäure bilden und daß erst diese vergoren werden kann. Die Auffindung der Hexosephosphorsäure ist sicher sehr wichtig, aber über den eigentlichen Zerfall des Zuckers kann sie ebensowenig aussagen, wie der Nachweis des Coenzyms durch dieselben Forscher[2]).

Auf ganz anderem Wege kam Grüß[3]) zur Aufstellung seiner Gärungshypothese. Er verknüpft zum ersten Male den Zerfall des Zuckers mit der Reduktion geeigneter Stoffe, wie Schwefel, Methylenblau. Die Atomgruppen des Zuckers werden irgendwie frei und dann nach folgenden Gleichungen umgesetzt:

$$\begin{array}{lcl} CH_2(OH) + H_2O & = & CO_2 + 5\,H \\ 4\,[CH(OH) + H_2O & = & CO_2 + 4\,H] \\ COH + H_2O & = & CO_2 + 3\,H \\ \hline \text{I. } C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O & = & 6\,CO_2 + 24\,H. \end{array}$$

Dieser (freiwerdende?) Wasserstoff reduziere Farbstoffe und bilde Schwefelwasserstoff, oder werde, wenn reduzierbare Stoffe fehlen, durch den mit Hilfe der Oxydase aufgenommenen Sauerstoff gebunden. Dann trete der Atmungsprozeß ein. Wenn aber der Sauerstoff mangele, wie bei starker Gärung, dann müsse der Wasserstoff auf andere Weise gebunden werden; dies könne durch die Zerfallsgruppen des Zuckers selbst geschehen:

$$\begin{array}{lcl} 2\,CH_2(OH) + 2\,H & = & C_2H_5OH + H_2O \\ 4\,[2\,CH(OH) + 4\,H & = & C_2H_5OH + H_2O] \\ 2\,COH + 6\,H & = & C_2H_5OH + H_2O \\ \hline \text{II. } 2\,C_6H_{12}O_6 + 24\,H & = & 6\,C_2H_5OH + 6\,H_2O. \\ \hline \text{I + II. } 3\,C_6H_{12}O_6 & = & 6\,C_2H_5OH + 6\,CO_2 \\ \text{bez. } C_6H_{12}O_6 & = & 2\,C_2H_5OH + 2\,CO_2 \end{array}$$

Dann sei die Atmung aufgehoben, die Zymase allein wirksam, die Gärprodukte sind CO_2 und Alkohol. Grüß vermutet, daß Zymase und der reduzierende Stoff (Hydrogenase, Reduktase, Philothion) mit einer gewissen Einschränkung identisch seien, und schließt weiter, daß die

[1]) Proceed. R., ser. B, Vol. **77**, p. 405.

[2]) Bioch. Z. **32**, 1911, S. 173ff.; **40**, 1912, S. 458.

[3]) Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen **27**, 1904, S. 724ff.

Alkoholbildung bei Fortnahme des Wasserstoffs, wenigstens zum Teil, ausfallen müsse. Dieses Fortnehmen könne durch Schwefel herbeigeführt werden, wie er experimentell (s. o.) gezeigt habe.

In mehr präzisierter Weise sind die Reduktionserscheinungen berücksichtigt in dem Gärungsschema von Kostytschew[1]):

$$C_6H_{12}O_6 + R = 2\,CH_3 \cdot CO \cdot COOH + RH_4 \qquad \text{I.}$$

$$2\,CH_3 \cdot CO \cdot COOH = 2\,CH_3 \cdot COH + 2\,CO_2 \qquad \text{II.}$$

$$2\,CH_3 \cdot COH + RH_4 = 2\,CH_3 \cdot CH_2 \cdot OH + R \qquad \text{III.}$$

Die Redukase der Hefe wirkt auf die zugesetzte Glukose ein unter Bildung von 2 Mol. Brenztraubensäure, indem sich gleichzeitig die Redukase mit Wasserstoff absättigt. Die Brenztraubensäure wird dann durch ein besonderes Ferment, die Carboxylase, zersetzt in Kohlensäure und Aldehyd; letzteres wird dann durch den an die Redukase vorübergehend gebundenen Wasserstoff zu Äthylalkohol reduziert. Die Rücklieferung des Wasserstoffs ist also nur zu Alkohol- nicht zur Kohlensäurebildung notwendig, ganz analog der Grüßschen Hypothese und praktisch auf dasselbe hinauslaufend. Die Kostytschewsche Theorie besitzt aber dadurch eine größere Daseinsberechtigung, daß ein Teil von ihr (II) realisiert worden ist. Neuberg und seine Mitarbeiter[2]) haben gefunden, daß die Brenztraubensäure tatsächlich durch Hefe in Kohlensäure und Azetaldehyd gespalten wird. Die Reduktion von Azetaldehyd zu Äthylalkohol durch Hefesaft und die Bildung größerer Mengen von Aldehyd aus Zucker bei Zusatz von Zinkchlorid oder Methylenblau will Kostytschew[3]) nachgewiesen haben. Es ist jedoch von Neuberg und Kerb[4]) darauf hingewiesen worden, daß bei der Bestimmung des Azetaldehyd methodische Mängel vorhanden gewesen sind.

Der experimentelle Beweis für ihre Richtigkeit ist also für die Kostytschewsche Theorie noch ebenso wenig erbracht, wie für die Theorie von Grüß. Ob die Reduktionen in einem derartig engen Zusammenhang mit der Gärung stehen, kann nicht behauptet werden, aber soviel ist sicher, daß ein gewisser weitgehender Parallelismus zwischen den Erscheinungen der Reduktion und der Gärung besteht. Es hat sich herausgestellt, daß verschiedene Einflüsse, wie Steigerung oder Verminderung der Temperatur, längeres Stehenlassen

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, 1912, S. 143.

[2]) Biochem. Zeitschr. **31**, 170; **32**, 323; **36**, 60, 68, 76; **37**, 170; **38**, 516; **43**, 44, 491; **47**, 405; **51**, 118.

[3]) Z. f. physiol. Ch. **85**, 1913, 493, 507.

[4]) Biochem. Zeitschr. **58**, 1913, S. 158.

des Saftes ohne Zucker, Verdünnen usw. in gleicher Richtung fördernd oder hemmend auf Gär- und Reduktionsvermögen wirken (Hahn). Auch hat der Zusatz gewisser Stoffe, insbesondere von Biphosphaten eine ungemein beschleunigende Wirkung sowohl auf die Reduktion (Zaleski[1]), als auch auf die Gärung. Bei der Vergärung von Traubenzucker konnte die Bildung einer Hexosephosphorsäure beobachtet werden, die erst dem Angriff der Zymase unterliegt. Wie aber ist die gleiche, beschleunigende Wirkung auf die Reduktion zu erklären? Alle diese Tatsachen machen einen Zusammenhang zwischen den Reduktions- und Gärungserscheinungen wahrscheinlich, und es erschien als eine dankbare Aufgabe, neues experimentelles Material beizubringen, auf Grund dessen sich eine Stellungnahme zu den Auffassungen von Grüß und Kostytschew ermöglichen lassen würde.

Nimmt man den Kern der beiden Theorien, die vorübergehende Entstehung von Wasserstoff, als richtig an, so müßte, wenn die Gärung bei Anwesenheit eines reduzierbaren Stoffes sfattfindet, das Verhältnis Alkohol : Kohlensäure verringert werden, da ja weniger Alkohol gebildet werden soll. Es machte sich also erforderlich, durch genaue Kohlensäure- und Alkoholbestimmungen bei und ohne Zusatz eines reduzierbaren Stoffes, die Änderung dieses Verhältnisses festzustellen. Außerdem erschien die quantitative Bestimmung des Reduktionsproduktes wünschenswert.

Bevor nun auf diese speziellen Untersuchungen eingegangen wird, soll erst einiges Allgemeine über das verwendete Hefematerial, den Zucker und das Antiseptikum gesagt werden.

A. Allgemeiner Teil.

Das Hefematerial.

Für die in Betracht kommenden Versuche erschien es notwendig, ein Präparat zu verwenden, das bei konstanter Temperatur und konstanten Bedingungen immer möglichst gleiches Gär- und Reduktionsvermögen besaß. Die lebende Hefe kommt hierbei nicht in Frage, da durch ihr Wachstum unkontrollierbare Verhältnisse geschaffen werden können. Das Wachstum mußte ausgeschaltet, also, um sicher zu gehen, mit toter Hefe gearbeitet werden, bei der gleichwohl die Gärwirkung nicht vernichtet ist. Diese Eigenschaften zeigt die Azetondauerhefe, das sogen. Zymin, das nach dem Verfahren von Buchner und Rapp durch Ein-

[1]) Ber. d. Deutschen Bot. Ges. **28**, 1910, S. 326ff.

tragen der Hefezellen in Azeton, wodurch Abtötung erfolgt, gewonnen wird. Nach den Versuchen von Palladin und seinen Mitarbeitern, die es seiner bequemen Handhabung wegen mit Vorliebe benutzten, mußte das Zymin auch zu dem vorliegenden Zweck gut geeignet erscheinen.

Das in der Hefe in mehr oder minder großer Menge vorhandene Glykogen, das durch ein synthetisches Enzym während der Gärung aus Zucker aufgebaut und später bei Zuckermangel durch ein hydrolysierendes Enzym wieder gespalten werden kann, geht natürlich bei der Abtötung nicht verloren. Es ist also auch im Zymin vorhanden, wenn die Hefezellen vor der Abtötung nicht durch eine besondere Behandlung davon befreit sind. Derartiges „Glykogenarmes Zymin" sollte nun wegen seiner Eigenschaft, ohne Zuckerzusatz nicht zu gären, was insbesondere für Vergleichsversuche mit und ohne Gärung vorteilhaft erschien, Verwendung finden.

Zur Prüfung des Gärvermögens dieses Präparates wurde der von Buchner vorgeschlagene Demonstrationsversuch mit 5 g Hefe und Zuckerwasser im engen Rohr ausgeführt. Es trat jedoch keine Gärung ein. Reduktion konnte bei Zusatz von Methylenblau ebenfalls nicht bemerkt werden. Bestätigt wurde die geringe Gärkraft durch eine Kohlensäurebestimmung:

1 g Zymin + 10 ccm Wasser + 10 ccm 4 Mol. Glukoselösung + 0,1 ccm Toluol

bei 25 g nach	120	1440 Min. [1]
Vers. Nr. 6: g CO_2	0,000	0,001

Nun wurde das gewöhnliche Zymin in den Kreis des Experimentes gezogen; bei diesem war es notwendig, die „Selbstgärung", d. h. die durch die Anwesenheit des Glykogens verursachte und ohne Zusatz von Zucker erfolgende Gärung zu bestimmen. Die dabei entwickelte Kohlensäure betrug nach Verlauf von drei Tagen mit oder ohne Zusatz von Toluol, das nur die Geschwindigkeit in geringem Maße verändert, 0,037 bis 0,038 g Kohlensäure, was einem Zuckergehalt von 0,080 g, berechnet auf Glukose, entspricht. Um festzustellen, ob das Zymin den Erwartungen bezügl. der Konstanz seines Gärvermögens entspräche, wurden 2 Parallelversuche angesetzt:

2 g Zymin + 3,6 g Glukose + 10 ccm Wasser + 0,1 ccm Toluol bei 25°. Nach:

Vers.-Nr.	139	271	450	1381	1586	1687	1892	2782	5644 Min.
10	0,066	0,134	0,209	0,413	0,432	0,442	0,453	0,473	0,488 g CO_2
11	0,064	0,132	0,203	0,397	0,416	0,424	0,434	0,455	— g CO_2

[1]) Bezüglich der Methodik bei diesen und den folgenden Versuchen s. S. 78.

Die Differenzen betrugen also bis ca. 4 %. Sie sind vielleicht durch das Zusammenballen der Hefe bedingt. Weit mehr betrugen sie aber bei Versuchen mit Methylenblau, wo vor allem die Gärgeschwindigkeit sehr verschieden war. Bei den Reduktionsversuchen machte sich übrigens noch ein anderer Nachteil bemerkbar: Die Hefezellen setzen sich bald zu Boden und die Entfärbung erfolgt zunächst nur in ihrer Umgebung, sodaß die überstehende Flüssigkeit noch tiefblau ist, nachdem die am Boden liegenden Hefezellen schon vollständig entfärbt sind. Durch dauerndes Schütteln könnte man allerdings dem abhelfen. Immerhin ist aber zu bedenken, daß die Reduktion, wie der Augenschein lehrte, an die Zelle gebunden ist, sei es, daß nun der Farbstoff eindringt, oder daß der reduzierende Stoff die Zelle verläßt. Jedenfalls kommt nicht allein die Reduktionsgeschwindigkeit, sondern auch die Diffusionsgeschwindigkeit zur Geltung. Daß dies tatsächlich der Fall ist, geht aus Versuchen Hahns hervor[1]), nach denen in der Reduktionswirkung des Hefepreßsaftes und der Dauerhefe auf Methylenblau ein Unterschied besteht, in dem Sinne, daß die Zeitdauer der Reduktion von 0,5 ccm 1 proz. Methylenblaulösung bei weiteren Zusätzen von Methylenblau nicht, wie beim Hefesaft, wächst, also die Geschwindigkeit der Reduktion abnimmt, sondern dieselbe bleibt.

Nach diesen Erfahrungen konnte also das Zymin für die geplanten Untersuchungen nicht in Frage kommen. Um einem von Zufälligkeiten freieren Verlauf und damit untereinander vergleichbare Resultate zu erhalten, empfahl es sich, mit Flüssigkeiten zu arbeiten, in denen die gärungserregenden und reduzierenden Stoffe in gleichmäßiger Verteilung vorhanden sind. Eine solche Flüssigkeit stellt der Hefesaft dar, sei es, daß er nun nach dem ursprünglichen Verfahren von Buchner aus Preßsaft oder nach dem vereinfachten von v. Lebedeff[2]) aus Mazerationssaft gewonnen wird. Ersteres besteht bekanntlich darin, daß die Hefe mit Quarzsand und Kieselgur zerrieben und diese halbflüssige Masse unter hohem Druck ausgepreßt wird.

v. Lebedeff hat dieses zeitraubende und kostspielige Verfahren bedeutend vereinfacht, indem er den osmotischen Druck der Zellen, der vorher durch vorsichtiges Trocknen gesteigert worden war, benutzte, um den Zellinhalt zu gewinnen. Er brachte die getrocknete Hefe in destilliertes Wasser und filtrierte nach längerem Stehen. Die Möglichkeit dieser Darstellung hatte übrigens Buchner schon früher vermutet und vorausgesagt[3]).

---

[1]) Buchner und Hahn, Zymasegärung, S. 345 oben.

[2]) Compt. Rend. **152**, 1911, p. 48.

[3]) Buchner u. Hahn, Zymasegärung, S. 71.

Zur Gewinnung dieses Mazerationssaftes wurde die Trockenhefe[1]) nach Vorschrift mit der dreifachen Menge destillierten Wassers digeriert und 15 Stunden bei Zimmertemperatur (12—15°) stehen gelassen. Hierbei trat eine Aufblähung der ganzen Masse ein, die ein Überlaufen aus dem Gefäß zur Folge hatte. Dies wurde der Vergärung des in der Hefe vorhandenen Glykogens („Selbstgärung") zugeschrieben. In der Tat zeigte sich die verwendete Trockenhefe bei der Färbung mit Jod unter dem Mikroskop als sehr glykogenreich. Die ganze Masse wurde nun umgeschüttelt, wobei sie sich setzte und auf einem Kieselsäurefilter im Büchner-Trichter abgesaugt. Dies war von Rinckleben[2]) ausgeführt und empfohlen worden. Das unter Eiskühlung aufgefangene Filtrat erwies sich als gär- und reduktionsfähig. Quantitativ gemessen war jedoch die Gärung noch nicht besonders groß. Auch war die Ausbeute sehr gering, da beim Filtrieren infolge des Saugens Schaumbildung auftrat. Außerdem wurde das Filter auch bei sehr dünner Kieselsäureschicht leicht verstopft. Aus diesen Gründen wurde von der Rinckleben'schen Modifikation des v. Lebedeff'schen Verfahrens abgesehen und der Saft durch ein einfaches Faltenfilter ohne Saugen filtriert. Das Filtrat war jedoch noch trüb und erwies sich unter dem Mikroskop nicht als zellenfrei. Es wurde deshalb noch durch ein gehärtetes Filter gegeben und zwar derart, daß der aus dem großen Filter abtropfende Saft direkt auf das kleinere gehärtete Filter kam. Auf diese Weise wurden nach 4 bis 5 Stunden aus 100 g Hefe und 300 g Wasser ca. 100 ccm Hefensaft gewonnen. Um die Filtrierdauer abzukürzen, wurde bei späteren Versuchen der Hefebrei auf mehrere kleinere Faltenfilter verteilt und der Saft durch ein sechsarmiges Sammelrohr gemeinsam auf das gehärtete Filter geleitet. Wegen der immerhin noch langen Filtrierdauer war es notwendig, den Saft sofort durch Eis zu kühlen, damit die Zymase nicht der verdauenden Wirkung des ebenfalls im Saft vorhandenen proteolytischen Enzyms anheimfiel. Die besten Resultate wurden erzielt, wenn der Saft durch eine Eiskochsalzmischung zum Gefrieren gebracht wurde. Außer der besseren Haltbarkeit hatte dies, wie sich später herausstellte, noch den Vor-

[1]) Diese „Trockenhefe nach v. Lebedeff" wurde ebenso wie das oben erwähnte Zymin von A. Schroder, Hefefabrik, München, bezogen. Trockenhefe aus dem Inst. f. Gärungsgewerbe Berlin, sogen. Nährhefe, ergab bei der gleichen Behandlung einen absolut unwirksamen Saft. Jedenfalls waren bei dieser die gärungsverursachenden Stoffe, dem besonderen Zweck als Nahrungsmittel entsprechend, vernichtet worden.

[2]) Rinckleben, Diss. Braunschweig 1912; Allg. Ztg. f. Bierbrauerei und Malzfabrikation Nr. 17 ff.

teil, daß an den sich bildenden Eisnadeln die im Hefesaft enthaltene Kohlensäure zum Entweichen gebracht wird.

Der so erhaltene Saft war klar, dünnflüssig, von gelbbrauner Farbe, angenehm im Geruch und Geschmack. Das spezifische Gewicht wurde zu 1,048 gefunden. Er ist also in den wesentlichsten Eigenschaften identisch mit dem Buchner'schen Hefepreßsaft. Im Lichtkegel einer Bogenlampe zeigte er bisweilen eine schwachgrünliche Fluorescenz. Zunächst zeigte allerdings die quantitative Bestimmung des Gärwertes[1]), daß dieser noch weit hinter den von Buchner und v. Lebedeff gefundenen Zahlen zurückblieb. Zur Erklärung gab es zwei Möglichkeiten: entweder hatte die Zeit bezw. die Temperatur nicht genügt, um genügend Zymase aus den Zellen herauszuschaffen, oder es hatte die Mazeration zu lange gedauert, bezw. die Temperatur war zu hoch gewesen, sodaß die Endotryptase bereits ihre vernichtende Wirkung hatte ausüben können. Bei bestimmter Mazerationsdauer war also für die Temperatur eine untere Grenze durch das Nichtaustreten der Zellstoffe, eine obere durch die Wirkung der Endotryptase gegeben.

Zur Feststellung, welche Temperatur am besten geeignet sei, zur Herstellung eines möglichst hochwertigen Saftes, wurden folgende 3 Versuche angesetzt: Je 20 g Hefe wurden mit 60 g Wasser 15 Stunden lang mazeriert und zwar die erste Portion bei 2—3°, die zweite bei 16° und die dritte bei 25°. Am Ende der Zeit war in der ersten die ganze Masse aufgebläht, die Selbstgärung also noch in vollem Gange; der Saft war ziemlich schwer filtrierbar. Bei Versuch 2 war die Masse noch dickflüssig und nur in der dritten Portion war die Selbstgärung vorbei, der Saft leicht flüssig und leicht filtrierbar. Nun wurde zu je 10 ccm der Filtrate 4 g Rohrzucker und 0,1 ccm Toluol gegeben, bei 32° stehen gelassen und nach verschiedenen Zeiträumen die Kohlensäureentwicklung gemessen. Sie ergibt sich aus folgender Tabelle:

Versuch Nr.	Minuten	165	455	1310	1735	2740
12	Saft 1	0,007	0,009	0,024	0,032	—
13	„ 2	0,007	0,012	0,041	0,059	—
14	„ 3	0,097	0,192	0,498	0,547	0,622

[1]) Über die Intensitätsbezeichnung der Kohlensäurebildung bei der Gärung herrscht zurzeit eine ziemliche Willkür. Gärvermögen, Gärkraft, Gärungsenergie sind die gebräuchlichsten Ausdrücke. Auf Vorschlag von Herrn Prof. Böttger soll in vorliegender Arbeit mit „Gärvermögen“ nur die Fähigkeit, Gärungserscheinungen hervorzurufen, bezeichnet werden. Die Menge der Kohlensäure, die nach genügend langer Zeit von einem bestimmten Volumen erhalten wird, soll dagegen in Analogie mit den Ausdrücken Oxydations- und Reduktionswert als „Gärwert“ eingeführt werden. (S. Böttger, Qual.-Analyse, S. 109.)

Im Gegensatz zu den Versuchen von v. Lebedeff erwies sich also nicht der bei Zimmertemperatur, sondern der bei 25° unter Einhaltung einer 15 stündigen Mazerationsdauer gewonnene Saft als am wirksamsten in Bezug auf die Gärung.

Besonders vorteilhaft wäre es gewesen, wenn unter den gleichen äußeren Bedingungen hergestellte Säfte immer den gleichen Gärwert gezeigt hätten. Doch war dies leider, wie zu erwarten, nicht der Fall. Säfte aus verschiedenen Trockenhefen zeigten verschiedene Gärwerte, aber auch Hefesäfte, die bei gleicher Mazerationsdauer und -Temperatur, möglichst gleichen Bedingungen der Filtration und übereinstimmender Kühlung des Filtrates erhalten waren, stimmten nicht im Gärwert überein. Nur eine größere Menge desselben Saftes, gut durchgeschüttelt, konnte zu vergleichenden Messungen Verwendung finden.

Es sei hier noch einiges angefügt, bezgl. der Gärwerte der verschiedenen Trockenhefen, die ja für die Gärwerte des hergestellten Saftes maßgebend sind. Unangenehmerweie schwanken diese außerordentlich und zwar machte sich ein Wechsel innerhalb des Jahres bemerkbar, in der Weise, daß vom Februar bis Mitte des Sommers Trockenhefen von hohem Gärwert zu haben sind, während im Herbst bis Ende des Jahres die Hefen 5 bis 6 mal so geringen Gärwert haben[1]).

Der Zucker.

Als zu vergärender Zucker wurde, um hierin immer die gleichen Versuchsbedingungen zu wahren, bei den eigentlichen Versuchen ausschließlich Glukose verwendet, weil diese unter den Monosacchariden am besten vergärbar ist. Auch ist Glukose in genügender Reinheit zu erhalten. Das Präparat wurde von Kahlbaum bezogen.

Das Antiseptikum.

Als Antiseptikum wurde bei den einfachen CO_2-Bestimmungen (Teil B 2) und bei den Reduktionsversuchen (Teil B 4) durchgängig Toluol benutzt, dessen Vorzüge schon von Buchner ausführlich dargetan worden sind[2]). Zur Anwendung gelangte 1 Vol-Proz.

Für die genauen CO_2- und Alkohol-Bestimmungen (Teil B 3) erschien die Zufügung von Toluol bedenklich wegen der schwierigen Trennbarkeit des Alkohols und Toluols. Buchner verwendet deshalb

[1]) Nach einer privaten Mitteilung von Herrn Dr. Rapp, München, ist dieses Verhalten darauf zurückzuführen, daß die meisten Brauereien Ende des Sommers ihren Betrieb einstellen und die Hefe infolgedessen degeneriert.

[2]) Buchner u. Hahn, Zymasegärung, S. 178.

bei solchen Versuchen Arsenit als Antiseptikum. Dieses hat sich aber, wie im Anschluß an die Versuche mit Methylenblau gezeigt werden wird, nicht bewährt. Es wurde daher bei diesen Versuchen auf das Toluol zurückgegriffen.

Durch mikroskopische Untersuchungen des Hefesaftes und Gießen von Plattenkulturen mit den ausgegorenen Säften, was im Anfang öfters ausgeführt wurde, erlangte man die Gewißheit, daß die Wirkung des Toluols gut gewesen war. Meist fanden sich nur wenige Keime auf den Platten, oft auch, namentlich bei starken Zusätzen, gar keine.

B. Spezieller Teil.

I. Qualitative Vorversuche.

Als reduzierbare Stoffe, die zu den in Aussicht genommenen Versuchen geeignet erschienen, kamen von vornherein alle in Betracht, die schon früher zum Nachweis biologischer Reduktionen benutzt worden waren, insbesondere also verschiedene organische Farbstoffe, ferner S-, Se- und Te-Verbindungen. Um die Wirkungsweise des Hefesaftes auf diese und andere in Betracht kommende Stoffe kennen zu lernen, wurde eine qualitative Versuchsreihe angesetzt, bei der je 5 ccm Hefesaft mit 1 ccm einer verdünnten Lösung des betreffenden Stoffes bezw. mit einer geringen Menge des festen Stoffes unter Zusatz von 0,5 g Zucker und 0,05 ccm Toluol versetzt wurden. Die Ausführung geschah in kleinen Reagenzgläsern, die mit einem durchbohrten Korkstopfen verschlossen waren und in einem Thermostaten von 25° gehalten wurden. Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengestellt:

Farbstoffe:

Methylenblau:	Nach kurzer Zeit, selbst in stärkerer Konzentration nach nicht zu langer Zeit entfärbt.
Indigkarmin:	Nur wenig länger.
Indigosulfons. Na:	Entfärbung erst nach ziemlich langer Zeit.
Methylviolett:	Auch in sehr geringer Menge nicht entfärbt.
Indigo, synth.:	Nicht entfärbt; ungünstig, weil unlöslich.
Rosanilin:	Nicht entfärbt.
Vesuvin:	Nach 3 Tagen ziemlich entfärbt.
Pikrinsäure:	Sehr langsam angegriffen unter Bildung eines roten Stoffes, ohne Zucker schneller als mit diesem.

Schwefel,

Na-Thiosulfat:	Entwickeln stark H_2S, Pb-Azetatpapier im Hals des Reagenzglases intensiv schwarz gefärbt.

Natriumselenit:	Nach kurzer Zeit Auftreten einer Rotfärbung, später Bildung eines ziegelroten Niederschlages.
Selensäure:	Allmählich schwache Rotfärbung.
Natriumtellurit:	Nach ganz kurzer Zeit beginnt Dunkelfärbung, die sich allmählich verstärkt; später schwarzer Niederschlag.
Tellursäure:	Die Dunkelfärbung tritt etwas später auf.
Natriummolybdat: / **NH_4-Molybdat:**	Braunfärbung des Saftes, wird nicht sonderlich intensiver mit der Zeit.
NH_4-Vanadat:	Nach 1 Stunde schwache Grünfärbung (V_2O_3-Salz), die aber nicht weiter zunimmt.
NH_4-Wolframat:	Keine Veränderung.
Wolframsäure:	Im Saft suspendiert, überzieht sich an der Oberfläche mit einer blauen, festen Verbindung, die einen weiteren Angriff anscheinend unmöglich macht, Saft ungefärbt.
Niob-Säure:	Suspendiert, überzieht sich blau; Saft ungefärbt,
Na-Niobat:	Schwache Blaufärbung.
Ferricyankalium + $FeCl_3$:	Nur geringe Blaufärbung.

Hiernach erschienen also geeignet unter den Farbstoffen: Methylenblau und Indigkarmin, von anorganischen Stoffen: Selenit, Tellurit, Schwefel und Thiosulfat.

Gärung hatte, soweit Zucker zugesetzt war, überall stattgefunden. Es waren bei diesen Versuchen immer nur geringe Konzentrationen der reduzierbaren Stoffe angewendet worden, die eine merkliche Schädigung des Gärvermögens nicht zur Folge haben konnten. Wollte man jedoch unter Annahme der Richtigkeit der Grüß'schen Theorie eine merkliche Verschiebung des Verhältnisses $\frac{\text{Alkohol}}{CO_2}$ erhalten, so mußte mit bedeutend höheren Konzentrationen des reduzierbaren Stoffes gearbeitet werden. Diese aber werden offenbar, je nach den einzelnen Stoffen mehr oder weniger eine Schädigung der Eiweißstoffe des Saftes und eine größere oder geringere Hemmung der Gärung bewirken, genau so, wie dies durch andere nicht reduzierbare Stoffe, z. B. Salze, geschieht. Es war daher die nächstliegende Aufgabe, den Einfluß der reduzierbaren Stoffe auf die Kohlensäureproduktion festzustellen. Erst nach den dadurch gewonnenen Erfahrungen konnte für die genauen CO_2- und Alkohol-Bestimmungen eine geeignete Wahl getroffen werden.

2. Einfluß reduzierbarer Stoffe auf die CO_2-Entwicklung.

Methodik. Bei diesen Versuchen kam es nur darauf an, den Einfluß verschiedener reduzierbarer Stoffe auf den Verlauf der Gärung, oder besser gesagt, die Kohlensäureentwicklung, zu untersuchen. Es genügte hierbei, festzustellen, wie groß die Differenz im Gärwert ist zwischen der normalen Gärung und der Gärung bei Zusatz eines der zu prüfenden Stoffe unter sonst gleichen Bedingungen. Es konnte daher auf eine besonders genaue Bestimmung der CO_2 verzichtet und nach Buchners Vorgang die entwickelte CO_2-Menge einfach durch Gewichtsverlust bestimmt werden. Da es sich, wie gesagt, nur darum handelte, Differenzen festzustellen, war es auch nicht notwendig, die CO_2 nach Beendigung des Versuches vollständig zu verdrängen.

Die zu diesen Versuchen ausnahmslos verwendeten Kölbchen waren ca. 8 cm hoch und faßten ca. 50 ccm im ganzen. Mit Hilfe von guten, ausgesuchten Korkstopfen wurden auf ihnen die kleinen zur Zurückhaltung des Wassers dienenden und deshalb mit Schwefelsäure gefüllten Gäraufsätze befestigt, wie sie schon von Buchner benutzt worden waren. Sie zeichnen sich durch besondere Leichtigkeit aus. Von den Kolben wurden nur die besonders dünnwandigen verwendet. Die Korkstopfen wurden nach dem Einsetzen in die Kolben vollständig paraffiniert, sodaß die Kohlensäure nur durch den Gäreaufsatz und das daran sich anschließende Gummiventil entweichen konnte. Der infolge Übersättigung an CO_2 im Kölbchen vorhandene Überdruck mußte vor dem Wägen jedesmal durch vorsichtiges Schütteln beseitigt werden. Das Gesamtgewicht der versuchsfertigen Kölbchen betrug meist 30—35 g, selten einige g mehr.

Bei allen Versuchen wurde möglichst einheitlich verfahren. Es wurden Versuchsreihen, meist zu 4—6 Versuchen angestellt, zu denen ein und dieselbe Saftprobe verwendet wurde. Der eine von diesen einzelnen Versuchen verlief ohne Zusatz und hatte als „Normalversuch“ zu gelten. Die übrigen enthielten den reduzierbaren Stoff in verschiedener Konzentration; er wurde teils in wässeriger Lösung, teils in fester Form zugegeben. Um bei allen Versuchen das gleiche Flüssigkeitsvolumen und die gleiche Konzentration an Zymase zu haben, wurden durchgängig 9 ccm Hefesaft mit 1 ccm Wasser bezw. 1 ccm einer 10 mal so konzentrierten Lösung (gegenüber der herzustellenden Lösung) des reduzierbaren Stoffes versetzt. Für die stärkeren Konzentrationen wurden, wie erwähnt, die erforderlichen Mengen meist abgewogen in festem Zustand zugefügt.

In dem so erhaltenen Gemisch wurde dann unter kräftigem Umschütteln Zucker in fein gepulvertem Zustande eingetragen und durch Schütteln verteilt. Endlich wurde 0,1 ccm Toluol zugefügt, die Kölbchen verschlossen, paraffiniert und zur ersten Wägung gebracht. Mit dem Normalversuche wurde begonnen, die übrigen Kölbchen folgten in Abständen von 4—5 Minuten. Dies wurde auch bei den übrigen Wägungen eingehalten. Nach dem Wägen wurden die Kölbchen schnell in den Thermostaten gebracht, wo sie bei 25° sich selbst überlassen waren.

Die Gewichtsabnahme der Gärkölbchen wurde im Anfang der Gärung nach kurzen Zwischenräumen, später seltener festgestellt. Nach 5 bis 6 Tagen war die Gärung meist beendet. Daß es nicht ohne Bedeutung war, die Wägungen am Anfang öfters vorzunehmen, beweisen verschiedene Versuche, bei denen eine anfängliche Verzögerung oder Steigerung ohne diese Wägungen vollständig entgangen wäre.

Die Konzentration des Zuckers und der Stoffe, deren Einfluß auf die alkoholische Gärung geprüft werden sollte, wurde bisher von Buchner und anderen Autoren prozentual angegeben. Ich gebe die Konzentration durchgängig in Mol per Liter an, da nur diese unter den verschiedenen Stoffen vergleichbare Werte liefern können. Der Zucker wurde vorwiegend in annähernd doppelt molarer, bei späteren Versuchen auch in molarer und noch geringerer Konzentration angewendet. Für die zu prüfenden Stoffe wurden die Konzentrationen 0,001-, 0,01-, 0,1-molar[1]) gewählt, seltener kamen 0,02 und 0,04 u. a. Konzentrationen in Anwendung. Stärkere Konzentrationen als 0,1 Mol erschienen nicht gut verwendbar, da schon eine solche Lösung bei den meisten Stoffen zu stark hemmend wirkte.

Erklärung der Tabellen. Bevor auf die einzelnen Versuchsreihen näher eingegangen wird, soll noch für die aus den Versuchsergebnissen zusammengestellten und berechneten Tabellen einiges Allgemeingiltige vorausgeschickt werden. Die Zeitintervalle sind in Minuten angegeben und auf 5 Minuten abgerundet; die dieser Abrundung entsprechenden Korrekturen, soweit sie überhaupt erforderlich waren, sind bei den Kohlensäure-Werten schon angebracht.

Jede Tabelle besteht aus 4 Teilen A, B, C und D. In A sind in den Horizontalreihen die ermittelten Kohlensäuremengen in gr eingetragen, wie sie bei den verschiedenen Versuchen nach den in der ersten Horizontalreihe angegebenen Zeiten direkt gefunden wurden. In B sind

[1]) Genau genommen, waren die Konzentrationen wegen der durch den Zuckerzusatz verursachten Volumvermehrung etwas geringer.

die während der zwischen den einzelnen Wägungen liegenden Zeiträume entwickelten Kohlensäuremengen eingetragen, ebenfalls in gr. In den Tabellen C ist die zwischen den einzelnen Wägungen pro 1 Minute entwickelte Kohlensäure berechnet, und zwar wegen der Kleinheit dieser Werte in mg. Diese Tabelle gibt also die Geschwindigkeitswerte an. In D endlich sind die Kohlensäuremengen bei den Zusatzversuchen auf die des Normalversuchs bezogen und in Prozenten derselben ausgedrückt. Sie wurden direkt aus B berechnet. In der letzten Vertikalreihe der Tabellen D finden sich noch die aus den Gesamt-Gärwerten im Sinne dieser Tabelle berechneten Werte (Hemmungs- oder Depressionswerte).

a) Methylenblau.

Dieser Farbstoff ist wegen seiner leichten Reduzierbarkeit von den Forschern in bevorzugtester Weise zum Nachweis von biologischen Reduktionen benutzt worden. Es war zu erwarten, daß er sich zu den vorliegenden Untersuchungen vorzüglich eignen würde, umsomehr, als ja auch bei den qualitativen Vorversuchen günstige Erfahrungen damit gemacht worden waren.

Das verwendete „Methylenblau medicinale" war von den Höchster Farbwerken bezogen worden.

Methylenblau hat die Formel $C_{16}H_{18}SN_3Cl \cdot 2\,H_2O$[1]), woraus sich das Molekulargewicht zu 355,74 berechnet. Die Konzentrationen 0,001 und 0,01 wurden durch Zugabe von 1 ccm einer 0,01 und 0,1 molaren Lösung erhalten, die höheren Konzentrationen 0,02, 0,04 und 0,1 molar jedoch durch direktes Abwägen der erforderlichen Mengen Methylenblau (0,0711 g, 0,1423 g und 0,3557 g).

Die ersten Methylenblauversuche waren unter Anwendung von Zymin ausgeführt worden. Da diese aber mit den hier vorliegenden keine vergleichbaren Werte ergaben und ergeben konnten, sollen sie unberücksichtigt bleiben.

Die durch Einwirkung des Methylenblau auf die Hefesaftgärung erhaltenen Resultate sind in den Tab. 1, 2 und 3 (Vers. 35/36) zusammengestellt. Die Versuche, soweit sie doppelt ausgeführt sind, wie für 0,04 und für 0,1 molar, zeigen eine gute Übereinstimmung, namentlich wenn man die insgesamt entwickelte CO_2 betrachtet (bei 0,04 molar 63 bezw. 65 % der Normalgärung, bei 0,1 molar 25 bezw. 27 %), aber auch in den einzelnen Stadien der Gärung ist die Übereinstimmung so gut, als man

---

[1]) Nach Wichern, Zeitschr. f. physiol. Ch. **57**, S. 370.

bei so diffizilen Flüssigkeiten, wie dem Hefesaft, nur erwarten kann. Dies beweist die Brauchbarkeit der Methode.

Tabelle 1.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 0,1 ccm Toluol +
- (26): 1 ccm H_2O
- (27): 1 „ 0,01 mol. Methylenblaulösung
- (28): 1 „ 0,1 „ „
- (29): 1 „ H_2O + 0,3557 g Methylenblau

Versuch Nr.	Konzentration an Methylenblau	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:								Gärwerte	Bem.
		138	322	450	1160	1400	2645	4185	5700	7300	
26	0	0,012	0,068	0,123	0,351	0,425	0,664	0,831	0,911	**0,947**	
27	0,001 mol.[1]	0,023	0,076	0,129	0,348	0,419	0,653	0,793	0,851	**0,861**	[1] Sofort entfärbt
28	0,01 „	0,041[2]	0,093	0,141	0,361	0,424	0,637	0,764	0,810	**0,815**	[2] Entfärbt
29	0,1 „	0,027	0,060	0,079	0,166	0,186	0,233	0,236	0,236	**0,236**	Nicht entfärbt
		B. g CO_2, entwickelt während der Zwischenzeiten (Min.):									
		138	184	128	710	240	1245	1540	1515	1600	
26	0	0,012	0,056	0,055	0,228	0,074	0,239	0,167	0,080	0,036	—
27	0,001 mol.	0,023	0,053	0,053	0,219	0,071	0,234	0,140	0,058	0,010	—
28	0,01 „	0,041	0,052	0,048	0,220	0,063	0,213	0,127	0,040	0,005	—
29	0,1 „	0,027	0,033	0,019	0,087	0,020	0,047	0,003	0	0	—
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min., während dieser Zeiten:									
26	0	0,087	0,304	0,430	0,321	0,308	0,192	0,108	0,052	0,023	—
27	0,001 mol.	0,167	0,288	0,414	0,308	0,296	0,188	0,091	0,044	0,006	—
28	0,01 „	0,297	0,283	0,375	0,309	0,263	0,171	0,083	0,030	0,003	—
29	0,1 „	0,196	0,179	0,148	0,123	0,083	0,038	0,002	0	0	—
		D. CO_2 beim Normal-Versuch (26) = 100, dann ist für:									Hemmungswert
27	0,001 mol.	192	95	96	96	96	98	78	85	26	**91**
28	0,01 „	342	93	87	96	85	89	72	58	13	**86**
29	0,1 „	225	58	34	38	26	20	2	0	0	**25**

Betrachten wir nun die Einzelergebnisse an Hand der Tabellen: Gleich zu Beginn der Gärung zeigt das Methylenblau einen bedeutenden Einfluß in dem Sinne, daß die CO_2-Entwicklung gegenüber der Normalgärung beträchtlich gesteigert ist. Nach den ersten 70 Minuten beträgt

sie für 0,02 und 0,04 molar fast das 4-fache und selbst in der stärksten Konzentration noch das 3-fache der normal entwickelten Kohlensäure. Man könnte vielleicht die Ursache dieser Erscheinung darin suchen, daß

Tabelle 2.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 0,1 ccm Toluol + 1 ccm H_2O + verschiedene Mengen Methylenblau.

Versuch Nr.	Konzentration an Methylenblau	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:								Gärwerte	Bem.
		70	205	375	515	1265	2747	4190	5795	8660	
31	0	0,003	0,041	0,093	0,149	0,387	0,677	0,811	0,872	**0,879**	—
32	0,0711 g	0,012	0,058	0,108	0,157	0,369[1])	0,610	0,704	0,725	**0,738**	[1]) Entfärbung
33	0,1423 g	0.012	0,050	0,090	0,127	0,269[2])	0,502	0,550	0,555	**0,556**	[2]) Entfärbung
34	0,3557 g	0,009	0,044	0,070	0,091	0,174	0,232	0,237	0,240	**0,240**	Nicht entfärbt
		B. g CO_2, entwickelt während der Zwischenzeiten (Minuten):									
		70	135	169	141	750	1482	1443	1605	2865	
31	0	0,003	0,038	0,052	0,056	0,238	0,290	0,134	0,061	0,007	—
32	0,0711 g	0,012	0,046	0,050	0,049	0,212	0,241	0,094	0,021	0,013	—
33	0,1423 g	0,012	0,038	0,040	0,037	0,169	0,233	0,048	0,005	0,001	—
34	0,3557 g	0,009	0,035	0,026	0,021	0,083	0,058	0,005	0,003	0,002	—
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min., während dieser Zeiten:									
31	0	0,043	0,282	0,308	0,397	0,317	0,196	0,093	0,038	0,002	—
32	0,0711 g	0,171	0,341	0,296	0,348	0,283	0,163	0,065	0,013	0,005	—
33	0,1423 g	0,171	0,282	0,237	0,262	0,225	0,157	0,033	0,003	—	—
34	0,3557 g	0,129	0,259	0,154	0,149	0,111	0,039	0,003	0,002	—	—
		D. CO_2 im Normal-Versuch gesetzt = 100, dann ist für:									Hemmungswert
32	0,0711 g	398	121	96	88	89	83	70	34	—	**84**
33	0,1423 g	398	100	77	66	71	80	35	8	—	**63**
34	0,3557 g	300	92	50	38	35	20	3	5	—	**27**

das Methylenblau gleich zu Anfang sehr kräftig reduziert wird, ein Vorgang, der natürlich nicht für sich allein stattfinden kann, sondern notwendig begleitet sein muß von einem Oxydationsvorgang. Dieser besteht offenbar darin, daß der Hefesaft, oder besser gesagt, ein oxydabler

Bestandteil desselben, oxydiert wird, wovon möglicherweise der Überschuß an CO_2 herrührt.

Tabelle 3.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose +
- (35): 1 ccm H_2O + 0,1 ccm Toluol
- (36): 1 „ H_2O + 0,1429 g Methylenblau + 0,1 ccm Tol.
- (37): 0,6 ccm Arsenitlösung + 0,4 ccm H_2O
- (38): 0,1429 g Methylenblau + 0,6 ccm Arsenitlösung + 0,4 ccm H_2O

Versuch Nr.	Antiseptikum	Konzentration an Methylenblau	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:							Gärwerte	Bem.
			185	410	1145	1745	2720	4595	7100	8890	
35	Toluol	0	0,048	0,133	0,396	0,566	0,735	0,899	0,959	**0,963**	—
36	„	0,04 mol.	0,059	0,119	0,312 [1])	0,433	0,554	0,623	0,629	**0,630**	[1]) Entfärbt
37	Arsenit	0	0,005	0,007	0,007	0,008	—	—	0,012	**0,012**	—
38	„	0,04 mol.	0,005	0,011 [2])	0,030	0,045	0,053	0,058	0,059	**0,059**	[2]) Entfärbt
			B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle (Min):								
			185	225	735	600	975	1875	2505	790	
35	Toluol	0	0,048	0,085	0,263	0,170	0,169	0,164	0,060	0,004	—
36	„	0,04 mol.	0,059	0,060	0,193	0,121	0,121	0,069	0,006	0,001	—
37	Arsenit	0	0,005	0,002	—	0,001	—	—	0,004	—	—
38	„	0,04 mol.	0,005	0,006	0,019	0,015	0,008	0,005	0,001	—	—
			C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min., nach obigen Zeiten:								
35	Toluol	0	0,260	0,376	0,358	0,283	0,173	0,088	0,024	0,005	—
36	„	0,04 mol.	0,319	0,266	0,263	0,261	0,124	0,037	0,002	—	—
37	Arsenit	0	0,027	0,009	—	—	—	—	—	—	—
38	„	0,04 mol.	0,027	0,027	0,026	0,025	0,068	0,003	—	—	—
			D. CO_2 im Normal-Versuch gesetzt = 100, dann ist für:								Hemmungswert
36	Toluol	0,04 mol.	123	70	73	71	72	42	8	—	**65**
37	Arsenit	0	10	2	0	0	0	0	0	—	**1**
38	„	0,04 mol.	10	7	4	9	5	5	0	—	**6**

Der anfänglichen Steigerung, einer Reizwirkung vergleichbar, folgt aber bald, schon nach 200 Minuten, eine Hemmung, die um so stärker ist, in je höherer Konzentration das Methylenblau sich vorfindet. Nach

400 Minuten beträgt die CO_2-Entwicklung bei 0,04 molar nur noch 75 %, bei 0,1 ca. 50 % und wird bei allen Konzentrationen proportional der Zeit und der Methylenblau-Konzentration immer geringer. Kleine Schwankungen treten zwar auf, namentlich bei geringeren Differenzen in der Zeit und der Konzentration. Bisweilen wird die Kohlensäureentwicklung wieder stärker. Jedoch können irgend welche Schlüsse daraus nicht gezogen werden. Man muß annehmen, daß es kleine Unregelmäßigkeiten sind, die in den Eigenschaften des Saftes ihre Ursache haben. Ein Zusammenhang mit einer etwa beendeten Reduktion des Methylenblaus scheint nicht zu bestehen.

Besonders gut zeigt sich der Einfluß des Methylenblaus auf die Gärung, wenn man die Hemmungswerte für die einzelnen Konzentrationen miteinander vergleicht. Aus den Tabellen D ergibt sich in Mittelwerten für:

0,001 molar	= 0,0036 g	Methylenblau:	91 %
0,01 „	= 0,0356 g	„	:	86 %
0,02 „	= 0,0712 g	„	:	84 %
0,04 „	= 0,1424 g	„	:	64 %
0,1 „	= 0,3557 g	„	:	26 %

Zur Gewinnung dieser Werte ist natürlich erforderlich, daß der Zymase genügend Zucker zu ihrer vollständigen Auswirkung geboten wird (in diesem Falle, s. o., 2 molar).

Was die Bemerkungen über die Entfärbung des Methylenblaus anlangt, so liegen diesen nur beiläufige Beobachtungen zugrunde. Bei ihrer Verwertung ist zu berücksichtigen, daß die Entfärbung nur gelegentlich (bei den Wägungen) festgestellt wurde, also zu Zeitpunkten, wo keineswegs die Entfärbung gerade stattfand, sondern vielleicht schon längere Zeit bestanden hatte, möglicherweise schon kurz nach der vorhergehenden Wägung eingetreten war. Immerhin dürften diese Beobachtungen nicht ganz ohne Belang sein.

Im Anschluß hieran sollen die schon erwähnten Versuche mit Arsenit besprochen werden. Dieses hat bei Vergärung von Glukose eine eigentümliche unregelmäßige Wirkung, die, wie ebenfalls Buchner schon festgestellt hat, mit der Beschaffenheit der Hefe vor der Saftbereitung und mit der Konzentration des Saftes in Zusammenhang steht[1]). Um das Verhalten des von mir benutzten Mazerationssaftes zu prüfen, wurden einige Versuche mit einer nach Buchners Vorschrift hergestellten Kaliummetarsenitlösung von 200 g Arsentrioxyd und 200 g Kaliumkarbonat in

[1]) Buchner u. Hahn, a. a. O., S. 197 ff., 202.

600 ccm Wasser angestellt. Die zur Erzielung einer antiseptischen Wirkung nötige Konzentration ist 2 %; es mußten also auf 10 ccm Lösung 0,2 g As_2O_3 kommen, mithin 0,6 ccm obiger Lösung zugegeben werden. Da nebenbei auch die Beeinflussung der Reduktion von Methylenblau geprüft werden sollte, wurden je 2 Parallelversuche mit und ohne Methylenblau, das eine Mal unter Zusatz von 0,1 ccm Toluol, das andere Mal von 0,6 ccm Kaliummetarsenitlösung und 0,4 ccm Wasser angesetzt. Die Konzentration des Methylenblaues wurde zu 0,04 molar gewählt, weil es in dieser Menge noch vollständig reduziert wird und auch die hemmende Wirkung nicht so groß ist.

Die Ergebnisse, die in Tab. 3 niedergelegt sind, ergaben auch hier einen ganz bedeutenden Einfluß des Arsenits; dieser ist so stark, daß die Gesamtentwicklung von CO_2 nur wenig höher als 1 % der Normalgärung ist. Besonders merkwürdig ist aber, daß der Zusatz von 0,04 molar Methylenblau diese hemmende Wirkung des Arsenits teilweise paralysiert, so daß der Gärwert auf 6 % des normalen kommt. Die Versuche zeitigen aber noch ein anderes Resultat, das nicht minder würdig ist hervorgehoben zu werden. Die Reduktion des Methylenblaues tritt bei Anwesenheit von Arsenit schneller ein; die Entfärbung konnte noch am Abend des Tages, an dem der Versuch begonnen hatte, festgestellt werden, während sie bei dem ohne Arsenit erst am andern Morgen beobachtet wurde. Letzteres steht in Übereinstimmung mit dem früheren Methylenblauversuch von derselben Konzentration. Man ist geneigt, zwischen diesen Phänomenen einen Zusammenhang zu suchen, der darin bestehen würde, daß das Methylenblau, wenigstens zum Teil, durch das Kaliummetarsenit reduziert wurde. Dadurch wäre dieses zu Arsenat oxydiert worden, das nach Harden und Young[1]) eher einen fördernden Einfluß auf die Gärung hat. Zur Klärung dieser Verhältnisse wurden wenige Tropfen einer verdünnten Methylenblaulösung in einem kleinen Kolben mit ca. 10 ccm der obigen Arsenitlösung versetzt, ebensoviel Wasser zugefügt und mit einem Stopfen verschlossen stehengelassen. Es zeigte sich trotz der geringen Methylenblau-Konzentration keine Reduktion. Eine ausreichende Erklärung für diese Erscheinung kann zunächst nicht geboten werden.

Nachdem die Versuche mit Methylenblau bereits abgeschlossen waren, erschien eine vorläufige Mitteilung von Lvoff[2]), in der Gärversuche mitgeteilt waren, die er mit Trockenhefe und Hefemazerationssaft unter

[1]) Harden u. Young, The influence of arsenates and arsenites on the fermentation of the sugars by yeast-juice. Proc. Roy. Soc. Ser. B. **83**, 1911, 451.

[2]) Ber. d. Deutschen bot. Gesellschaft **31**, 1913, S. 141.

Durchleiten von Wasserstoff ausgeführt hatte und bei denen die bis zur Entfärbung einer bestimmten zugesetzten Menge Methylenblau gebildete Kohlensäure bestimmt wurde. Lvoff fand, daß die Depression der Kohlensäure (die Menge, die gegenüber dem Kontrollversuch weniger gebildet wird) in einem einfachen Verhältnis zum reduzierten Methylenblau steht. Aus den obigen Versuchen konnte eine derartige zahlenmäßige Beziehung nicht herausgerechnet werden. Es wurde deshalb ein Versuch in größerem Maßstabe unter Durchleiten von Stickstoff (Wasserstoff erschien ungeeignet, weil dieser vielleicht die Reduktion begünstigen könnte) angestellt:

5 g Trockenhefe + 30 ccm H_2O + 5,4 g Glukose + 0,3 ccm Tol.

Versuch-Nr.	Methylenblau	CO_2 bei Entfärb. ausgesch.
150	—	1,613 g
151	0,534 g	0,661 g
152	1,067 g	—

In Versuch 152 trat überhaupt keine Entfärbung ein, d. h. also eine Menge, die nach den Lvoffschen Versuchen hätte entfärbt werden müssen, wurde nicht mehr reduziert. Bei 0,534 g Methylenblau beträgt der Unterschied 0,952 g, während er nach Lvoff berechnet nur 0,132 g betragen sollte. Es macht sich also, wie auch aus den übrigen Versuchen hervorgeht, ein viel stärkerer Einfluß des Methylenblaus auf die Gärung geltend, als man nach Lvoff erwarten sollte[1]). Ich war, wie oben erwähnt, von der Annahme ausgegangen, daß jeder Stoff, also auch das Methylenblau, einen fördernden oder hemmenden Einfluß auf die Gärung ausüben kann. Buchner hatte ja den Einfluß einer großen Anzahl von Salzen auf die Gärung geprüft; vergleichshalber sollen einige aus den Buchnerschen Daten berechnete Depressionswerte hier angeführt werden, wobei die prozentual angegebenen Konzentrationen auf molare umgerechnet sind.

(416)	NaCl	ca. 0,17	molar	76 %
(391 a)	Borax	„ 0,07	„	25 %
(398)	$CaCl_2$	„ 0,07	„	6 %
(399)	$BaCl_2$	„ 0,07	„	66 %
(412)	Na_2SO_4	„ 0,07	„	50 %

[1]) In seiner neuesten Arbeit (Ztschr. f. Gärungsphysiol. 3, S. 289) gibt übrigens Lvoff zu, daß bei stärkeren Methylenblauzusätzen Komplikationen eintreten können.

Man vergleiche hierzu:

Methylenblau	0,04 molar	64 %
„	0,1 „	26 %

Es ist also durchaus kein besonderes Verhalten zu konstatieren. In der Tat wäre es ja auch höchst verwunderlich, wenn das Methylenblau eine Ausnahme machen würde. Die Vermutung drängte sich auf, daß vielleicht das von mir verwendete Methylenblau nicht so rein gewesen war wie das Lvoffsche. Nach einer freundlichen Mitteilung von Exzellenz Ehrlich, Frankfurt, ist aber „Methylenblau med. Höchst" das reinste. Da Lvoff das gleiche benutzt hatte, konnte der Unterschied dadurch nicht verursacht sein. Es wäre zu prüfen, ob der Wasserstoff, den Lvoff durchleitete, einen begünstigenden Einfluß auf die Reduktion ausübt.

b) Indigkarmin.

Dieser Farbstoff, indigoblaudisulfonsaures Natrium, wurde dem indigoblaumonosulfonsauren Natrium vorgezogen, da, wie durch die qualitativen Vorversuche festgestellt worden war, durch Hefesaft eine Lösung von Indigkarmin schneller reduziert wird, als eine Lösung von indigomonosulfonsaurem Natrium bei gleicher Farbintensität.

Das Präparat wurde von Kahlbaum bezogen.

Das Indigkarmin hat die Formel: $C_{16}H_8N_2O_2(SO_3Na)_2$, woraus sich das M. G. zu 466,2 berechnet. Als Konzentrationen wurden 0,001, 0,01, 0,04, 0,1 molar gewählt. Alles Übrige ist aus Tab. 4 ersichtlich. Die bei Methylenblau beobachtete starke Anfangssteigerung ist hier nicht, selbst in der schwächsten Konzentration kaum, zu erkennen. Es macht sich sofort eine starke Hemmung geltend. Bei 0,04 und 0,1 molar ist sie so stark, daß die Kohlensäureentwicklung nahezu gleich Null ist. Auf kapillaranalytischem Wege und durch Ausschütteln mit Blutkohle wurde gefunden, daß das Präparat stark sauer reagiert. Möglicherweise liegt die intensiv gärungshemmende Wirkung an dieser sauren Reaktion. Jedenfalls war das Indigkarmin zu eingehenderen Versuchen nicht verwendbar.

c) Natriumthiosulfat.

Die Verbindungen des Schwefels, sowie der Schwefel selbst, sind eigentlich für diese Versuche nicht geeignet, weil als Reduktionsprodukt Schwefelwasserstoff entsteht[1]). Dieser entweicht natürlich mit der CO_2

[1]) Vergl. A. Kossowicz und W. Loew, Über das Verhalten von Hefen- und Schimmelpilzen zu Natriumthiosulfat. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, 2, 1913, S. 87.

Tabelle 4.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 0,1 ccm Toluol +
(36): 1 ccm H_2O
(37): 1 „ 0,01 mol. Indigolösung
(38): 1 „ H_2O + 0,0466 g Indigkarmin
(39): 1 „ „ + 0,1865 g „
(40): 1 „ „ + 0,4662 g „

Versuch Nr.	Konzentration an Indigkarmin	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:							Gärwerte	Bem.
		200	440	1180	1600	2715	4295	5690	7335	
39	0	0,053	0,145	0,386	0,511	0,675	0,791	0,827	**0,834**	—
40	0,001 mol.[1]	0,054	0,136	0,358	0,469	0,612	0,713	0,742	**0,749**	[1]) Schon n. wenig Minuten entfärbt
41	0,01 „	0,032	0,080	0,230	0,311	0,427[2])	0,487	0,491	**0,491**	[2]) Entfärbt
42	0,04 „	0,003	0,004	0,004	0,004	—	—	—	**0,004**	Nicht entfärbt
43	0,1 „	0,002	0,002	—	—	—	—	—	**0,002**	„ „
		B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle:								
		200	240	740	480	1055	1580	1395	1845	
39	0	0,053	0,092	0,241	0,125	0,164	0,116	0,036	0,007	—
40	0,001 mol.	0,054	0,082	0,222	0,111	0,143	0,101	0,029	0,007	—
41	0,01 „	0,032	0,048	0,150	0,081	0,116	0,060	0,004	—	—
42	0,04 „	0,003	0,001	—	—	—	—	—	—	—
43	0,1 „	0,002	—	—	—	—	—	—	—	—
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min. nach obigen Zeiten:								
39	0	0,265	0,382	0,326	0,260	0,156	0,073	0,026	0,004	—
40	0,001 mol.	0,270	0,342	0,300	0,232	0,136	0,064	0,021	0,004	—
41	0,01 „	0,160	0,200	0,203	0,169	0,110	0,038	0,003	—	—
42	0,04 „	0,015	0,004	—	—	—	—	—	—	—
43	0,1 „	0,010	—	—	—	—	—	—	—	—
		D. CO_2 im Normal-Versuch (39) = 100, dann ist für:								Hemmungswert
40	0,001 mol.	102	89	92	89	87	88	81	—	**89**
41	0,01 „	60	52	62	65	71	52	11	—	**59**
42	0,04 „	6	1	—	—	—	—	—	—	**0,5**
43	0,1 „	4	—	—	—	—	—	—	—	**0**

und bewirkt eine unbekannte Vergrößerung der Gewichtsdifferenz. Wenn dennoch mit Natriumthiosulfat eine Versuchsreihe angesetzt wurde, so geschah dies, um wenigstens einen gewissen Anhaltspunkt für die Stärke des Einflusses auf die CO_2-Entwicklung zu haben. Gerade das Na-thiosulfat wurde gewählt, weil es die Vorteile der leichten Reduzierbarkeit und großer Löslichkeit in sich vereinigt.

Das verwendete Präparat war das wasserhaltige, kristallisierte Salz von Kahlbaum; es hat die Formel: $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ und das M. G. 248,2.

Die angewendeten Konzentrationen waren die üblichen: 0,001, 0,01, 0,1 molar, dementsprechend wurde 1 ccm 0,01 molar $Na_2S_2O_3$-Lösung, bezw. 0,0248 g und 0,2482 g Natriumthiosulfat + 1 ccm H_2O hinzugefügt.

Die Ergebnisse stellt Tabelle 5 dar: offensichtlich tritt am Anfang der Gärung eine Verzögerung auf, die um so größer ist und um so länger anhält, je höher die Konzentration ist. Im weiteren Verlauf wurde bei 0,001 und 0,01 molar etwas mehr als die normale Menge entwickelt, bei 0,001 molar auch über den Zeitpunkt hinaus, wo der Geruch nach H_2S bereits nicht mehr wahrnehmbar war. Übrigens kann bei diesem Versuch die Entwicklung von H_2S noch keinen Einfluß auf den Gewichtsverlust haben, denn es waren überhaupt nur 0,0023 g $Na_2S_2O_3$ vorhanden. Selbst wenn man annimmt, daß beide S-Atome des Moleküls in H_2S übergeführt worden wären, würden sich daraus doch nur 0,0008 g $H_2S \sim 0{,}001$ g berechnen, also eine weit innerhalb der Versuchsfehler liegende Menge.

Bei 0,01 molar dauerte die Entwicklung von H_2S neben CO_2 länger, die Gesamtgasentwicklung war in den mittleren Stadien übernormal, fiel gegen das Ende sehr rasch. Die Gesamtmenge weicht nur wenig von der Normalmenge ab (97 %). Bei 0,1 molar erholte sich zwar die Gasentwicklung etwas, blieb aber während der ganzen Versuchsdaner gedrückt und hielt nur etwas länger an. Der Geruch nach H_2S trat erst später auf, was aber keinen Schluß auf die Bildung dieses Stoffes zu ziehen gestattet; denn wahrscheinlich wurde H_2S erst bei dem Beginn der CO_2-Entwicklung mit herausgetrieben.

Bemerkt sei noch, daß im Versuch bei 0,01 mit der Lösung der Saft nach einiger Zeit eine graue Farbe annahm, bei 0,1 sogar eine starke Dunkelfärbung ohne Ausfällung von Eiweißstoffen auftrat. Hahn schließt daraus, daß der Saft Eisenverbindungen enthält, die mit dem H_2S unter Bildung von FeS reagieren.

In der Tat konnte in der Asche von Trockenhefe qualitativ Fe in nicht unbeträchtlicher Menge nachgewiesen werden.

Tabelle 5.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 0,1 ccm Toluol + { (69): 1 ccm H_2O; (70): 1 „ 0,01 mol. $Na_2S_2O_3$-Lösung; (71): 1 „ H_2O + 0,0248 g $Na_2S_2O_3 \cdot 5\,H_2O$; (72): 1 „ „ + 0,2482 g $Na_2S_2O_3 \cdot 5\,H_2O$ }

Versuch Nr.	Konzentration an $Na_2S_2O_3$	A. g (CO_2 + H_2S), entwickelt nach Minuten:								Gärwerte	
		205	415	1100	1735	2665	4180	5665	7510	8900	
69	—	0,071	0,166	0,454	0,661	0,879	1,095	1,185	1,196	**1,199**	
70	0,001 mol.	0,061[1])	0,153[1])	0,467[1])	0,688[2])	0,905[3])	1,124	1,200	1,210	**1,212**	
71	0,01 „	0,044[1])	0,118[1])	0,399[1])[4])	0,624[1])	0,857[2])	1,081[2])	1,186[3])	1,170	**1,173**	
72	0,1 „	0,003[3])	0,004[3])	0,041[5])	0,111[2])	0,200[1])	0,288[1])	0,331	0,356	**0,365**	
		B. g (CO_2 + H_2S), entwickelt während der Zeitintervalle:									
		205	210	685	635	930	1515	1485	1845	1390	
69	—	0,071	0,095	0,288	0,207	0,218	0,216	0,090	0,011	0,003	
70	0,001 mol.	0,001	0,092	0,314	0,221	0,217	0,219	0,076	0,010	0,002	
71	0,01 „	0,044	0,074	0,281	0,225	0,233	0,224	0,087	0,002	0,003	
72	0,1 „	0,003	0,001	0,037	0,060	0,089	0,088	0,043	0,025	0,009	
		C. mg (CO_2 + H_2S), entwickelt pro 1 Min. nach obigen Zeiten:									
69	—	0,346	0,452	0,421	0,326	0,234	0,143	0,061	0,006	—	
70	0,001 mol.	0,298	0,438	0,458	0,348	0,233	0,145	0,051	0,005	—	
71	0,01 „	0,215	0,352	0,410	0,354	0,251	0,148	0,059	0,001	—	
72	0,1 „	0,015	0,005	0,054	0,095	0,096	0,058	0,029	0,014	—	
		D. CO_2 beim Normal-Versuch (69) = 100 gesetzt, dann ist für:									Hemmungswert
70	0,001 mol.	86	97	109	107	100	101	84	91	—	**101**
71	0,01 „	62	78	98	109	107	104	97	18	—	**97**
72	0,1 „	4	1	13	29	43	41	48	226	—	**30**

[1]) Beträchtlicher H_2S-Geruch. — [2]) Geringer H_2S-Geruch. — [3]) Kein H_2S-Geruch. — [4]) Saft grau gefärbt. — [5]) Starke Dunkelfärbung des Saftes ohne Ausfällung von Eiweißstoffen.

Bei allen Thiosulfatversuchen war die Schwefelsäure des Gärverschlusses stark getrübt, sicherlich infolge von Spuren ausgefallenen Schwefels.

d) Selenige Säure.

Wenden wir uns nun den Se-Verbindungen zu, von denen die selenige Säure und deren Na-Salz untersucht wurden. Beide sind leicht löslich in Wasser und liefern bei der Reduktion rotes, elementares Se. Die selenige Säure war von Kahlbaum bezogen. Das M. G. des SeO_2 ist 111,2; es wurden die für die Konzentrationen 0,001, 0,01 und 0,1 molar erforderlichen Mengen abgewogen und in 1 ccm H_2O resp. für die Selenitversuche in 1 ccm NaOH (von der entsprechenden Konzentration 0,02, 0,2, 2 molar) gelöst. Die Reihenfolge der Zugabe war die übliche: Selenige Säure, resp. Na-Selenit in 1 ccm Wasser, Hefesaft, Glukose und Toluol. Nur bei Versuch 68, der eine Wiederholung zu Versuch 59, aus unten zu erwähnenden Gründen, darstellt, wurde der Zucker vorher im Hefesaft gelöst und dann erst die selenige Säure zugefügt.

Wie die Tabelle 6 zeigt, ist auch hier, im Gegensatz zu Methylenblau, keine Reizwirkung der selenigen Säure auf die CO_2-Entwicklung zu verzeichnen, selbst in der schwächsten Konzentration nicht. Dagegen macht sich bei 0,001 molar SeO_2 ein dauernder Einfluß dahin geltend, daß die CO_2-Entwicklung stärker ist als bei der Normalgärung, und nur gegen Ende zu etwas zurückbleibt, so daß, wenn man die Gesamtmenge CO_2 betrachtet, eine Steigerung durch SeO_2 zu verzeichnen ist. Ganz besonders aber ist nach den Erfahrungen mit Methylenblau auffallend, daß 0,01 molar selenige Säure eine Verzögerung der CO_2-Entwicklung bewirkt und 0,1 molar überhaupt ein gänzliches Unterbleiben der CO_2-Entwicklung zur Folge hat. Die eigenartige Verzögerung der Gärung bei 0,01 molar besteht darin, daß zunächst 500 Min. lang nur minimale Mengen CO_2 entwickelt werden, und erst allmählich eine immer stärker werdende Gärung einsetzt, so daß sie nach 2000 Min. der normalen Gärung gleich ist, und sich zum Schluß hin immer etwas stärker hält. Als Gesamt-CO_2 ergibt sich schließlich 70 % der normalen Gärung. Was endlich die vollständige Unterdrückung durch 0,1 molar SeO_2 betrifft, so ist diese augenscheinlich darauf zurückzuführen, daß durch die Zugabe der SeO_2 zum Hefesaft eine starke Ausfällung von Eiweißstoffen bewirkt wird, womit jedenfalls eine Vernichtung der Zymase und des reduzierenden Körpers — denn auch die Reduktion des SeO_2 unterbleibt — verbunden ist. Die Reihenfolge der Zugabe hat nach Versuch 68 (s. o.) keinen Einfluß auf diese Erscheinung. Offenbar ist die Wirkung des SeO_2 ganz analog der des As_2O_3 und da bei letzterem die Reihenfolge der Zugabe einen Einfluß haben soll, mußte dieser Umstand auch beim SeO_2 geprüft werden. Die Verzögerung bei 0,01 molar SeO_2 könnte man vielleicht mit der Reduktion derart in

Zusammenhang bringen, daß das SeO_2 zunächst als Enzymgift wirkt und die Wirkung der Zymase aufhebt; in dem Maße, als dann das SeO_2

Tabelle 6.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 1 ccm H_2O + 0,1 Toluol + verschiedene Mengen SeO_2.

Versuch Nr.	Konzentration an SeO_2	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:							Gärwerte	Bem.
		180	425	1150	1735	2800	4595	6085	8790	
55	—	0,048	0,140	0,394	0,562	0,755	0,936	1,008	**1,016**	Parall. Vers. Mittel: 1,021
56	—	0,048	0,143	0,407	0,575	0,764	0,944	1,012	**1,025**	
57	0,001 mol.	0,050 [1]	0,145	0,437	0,622	0,849 [2]	1,061	1,098	**1,106**	[1]) Schwache Rotfärbung [2]) Rotfärbung verschwunden
58	0,01 „	0,004 [3]	0,007	0,081	0,201	0,407	0,614	0,688	**0,710**	[3]) Intensiv blutrot
59	0,1 „	0,003	0,003	—	—	—	—	—	**0,003**	Keine Rotfärb.
		B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle (Min.):								
		180	245	725	585	1065	1795	1490	2705	
55	—	0,048	0,092	0,254	0,168	0,193	0,181	0,072	0,008	—
56	—	0,048	0,095	0,264	0,168	0,189	0,180	0,068	0,013	—
57	0,001 mol.	0,050	0,095	0,292	0,185	0,227	0,212	0,037	0,008	—
58	0,01 „	0,004	0,003	0,074	0,120	0,206	0,207	0,074	0,022	—
59	0,1 „	0,003	0,000	—	—	—	—	—	—	—
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min., nach obigen Zeiten:								
55	—	0,267	0,376	0,350	0,287	0,181	0,100	0,048	0,003	—
56	—	0,267	0,388	0,364	0,287	0,177	0,100	0,046	0,005	—
57	0,001 mol.	0,278	0,388	0,403	0,316	0,213	0,118	0,025	0,003	—
58	0,01 „	0,022	0,012	0,102	0,205	0,193	0,115	0,050	0,008	—
59	0,1 „	0,017	—	—	—	—	—	—	—	—
		D. CO_2 beim Normal-Versuch (55 u. 56) = 100 gesetzt, dann ist für:								Hemmungswert
57	0,001 mol.	104	102	113	110	119	117	53	75	**109**
58	0,01 „	8	3	29	71	108	115	106	200	**70**
59	0,1 „	6	—	—	—	—	—	—	—	**0**

reduziert wird zu dem wahrscheinlich unschädlicheren Se, kann auch die Zymase wieder in Wirksamkeit treten.

Tabelle 7.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 0,1 ccm Toluol +
(64): 1 ccm H_2O
(65): 1 „ 0,02 mol. NaOH + 0,0011 g SeO_2
(66): 1 „ 0,2 „ „ + 0,0111 g „
(67): 1 „ 2 „ „ + 0,1112 g „
(68): 1 „ H_2O + 0,1112 g SeO_2

Versuch Nr.	Zusatz an SeO_2	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:								Gärwerte	
		185	430	1155	1780	2625	4080	6070	7030	8540	
64	0	0,041	0,134	0,394	0,585	0,776	0,989	1,117	1,133	**1,134**	
65	0,0011 g (NaOH)	0,046	0,134	0,394	0,606	0,816	1,045	1,143	1,147	**1,147**	
66	0,0111 g „	0,005	0,007	0,099	0,263	0,454	0,674	0,803	0,829	**0,844**	
67	0,1112 g „	0,003	0,004	—	—	—	—	—	—	**0,004**	
68	0,1112 g	0,006	0,006	—	—	—	—	—	—	**0,006**	
		B. g CO_2, entwickelt während der Zwischenzeiten (Minuten):									
		185	240	725	625	845	1455	1990	960	1510	
64	0	0,041	0,093	0,260	0,191	0,191	0,213	0,128	0,016	0,001	
65	0,0011 g (NaOH)	0,046	0,088	0,260	0,212	0,210	0,229	0,098	0,004	0,000	
66	0,0111 g „	0,005	0,002	0,092	0,164	0,191	0,220	0,129	0,026	0,015	
67	0,1112 g „	0,003	0,001	0,000	—	—	—	—	—	—	
68	0,1112 g	0,006	—	—	—	—	—	—	—	—	
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min. nach obigen Zeiten:									
64	0	0,222	0,388	0,359	0,306	0,226	0,146	0,064	0,017	0,000	
65	0,0011 g (NaOH)	0,249	0,367	0,359	0,339	0,249	0,157	0,049	0,004	0,000	
66	0,0111 g „	0,027	0,083	0,127	0,262	0,226	0,151	0,065	0,027	0,001	
67	0,1112 g „	0,016	0,042	—	—	—	—	—	—	—	
68	0,1112 g	0,032	—	—	—	—	—	—	—	—	
		D. CO_2 beim Normal-Versuch (64) = 100 gesetzt, dann ist für:									Hemmungswert
65	0,0011 g (NaOH)	112	95	100	111	110	107	77	25	—	**101**
66	0,0111 g „	12	2	35	96	100	103	101	163	—	**74**
67	0,1112 g „	7	1	—	—	—	—	—	—	—	**0,4**
68	0,1112 g	15	—	—	—	—	—	—	—	—	**0,5**

Die starke Wirkung der 0,1 molaren Lösung ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß das SeO_2 ja nicht nur ein Oxydationsmittel ist und reduziert werden kann, sondern auch ein Reduktionsmittel, wobei es selber oxydiert wird. (Analogie mit SO_2). Es käme nun auf die Stärke der Reduktionswirkung des SeO_2 an, ob diese derart reduzierend in den Hefesaft einzugreifen vermag.

In der schwächsten Konzentration tritt die Rotfärbung durch reduziertes Se schon nach kurzer Zeit auf; sie ist sehr gering und scheint nach einiger Zeit (2800 Min.) wieder zu verschwinden; es ist möglich, daß die Eiweißstoffe, die beim Gärungsverlauf nach einer gewissen Zeit infolge des entstehenden Alkohols immer ausfallen, das Se mitreißen, wodurch es bei seiner an sich geringen Quantität (es können ja höchstens 0,7 mg sein) durch seine Färbung nicht mehr auffallen kann.

Beim Natriumselenit (Tab. 7) haben wir nun ganz die gleichen Verhältnisse: fast normaler Verlauf bei 0,001 molar, Verzögeruug bei 0,01 molar, Sistierung bei 0,1 molar. Die Übereinstimmung ist so gut, das man die Zahlen unbedenklich als demselben Stoff zugehörig anerkennen würde; dies beweist, daß die Ausfällung der Eiweißstoffe und die Verzögerung der Gärung weder in der Säurewirkung der SeO_2 noch der Alkali-Wirkung des Na_2SeO_3 begründet sein können, sondern zweifellos dem Selen-Sauerstoff-Komplex eigentümlich sind.

Auch die Reduktion des Na_2SeO_3 ist im allgemeinen ganz analog, nur waren hier die bei 0,1 Mol ausgeschiedenen Eiweißstoffe etwas rot gefärbt. Besonders erwähnt aber muß werden, daß am Schluß des Versuchs, beim Öffnen der Kölbchen bei 0,01 Mol Na_2SeO_3 Spuren von SeH_2 oder organischen Seleniden durch den rettigartigen Geruch deutlich zu erkennen waren. Es findet also nicht nur Reduktion zu Se, sondern auch noch weiter zur Wertigkeitsstufe des SeH_2 statt, analog der Reduktion des S zu SH_2.

Es ist nicht unmöglich, daß das oben erwähnte Verschwinden der Rotfärbung auch durch die Bildung von SeH_2 verursacht ist.

Interessant ist, daß Korsakow[1]) bei Benutzung von Zymin ebenfalls einen starken Einfluß des Na_2SeO_3 gefunden hat. Unter Umrechnung der prozentual angegebenen Konzentrationen an Na_2SeO_3 auf molare ergibt sich, die CO_2-Menge beim Normalversuch = 100 gesetzt, folgendes Resultat:

---

[1]) Maria Korsakow, Über die Wirkung des Na-Selenits auf die Ausscheidung der CO_2 lebender und getöteter Hefe. Berl. Bot. Ges. **28**, 1910, S. 334.

Na_2SeO_3 %	Na_2SeO_3 mol.	CO_2
—	—	**100**
0,1	0,005	**13**
0,5	0,025	**5,0**
1	0,05	**4,2**
4	0,20	**2,2**

Berücksichtigt man, daß diese Berechnung auf Grund der in den ersten 24 Stunden gefundenen CO_2-Mengen angeführt ist, ferner daß mit einem anderen Hefematerial und anderen Konzentrationen Glukose (20 %) gearbeitet wurde, so sieht man ein, daß die unter so verschiedenen Bedingungen ausgeführten Versuche einem anderen als qualitativen Vergleich nicht unterworfen werden können. Zweifellos tritt ein starker hemmender Einfluß des Na_2SeO_3 auch hier hervor. Demgegenüber fand dieselbe Autorin bei lebender Hefe keinen hemmenden Einfluß, ja bei geringen Konzentrationen des Selenits sogar eine beschleunigende Wirkung. Dies ist auch als Beweis dafür anzusehen, daß die lebende Hefe die Fähigkeit besitzt, gewissen Stoffen in größerer Konzentration den Eintritt in ihr Protoplasma zu verwehren.

e) Tellurige und Tellursäure.

Von Tellurverbindungen kommen ebenfalls die Sauerstoffsäuren und ihre Salze in Betracht, also TeO_2, H_6TeO_6 und die Salze Na_2TeO_3 und Na_2TeO_4.

Die verwendeten Präparate (TeO_2 und H_6TeO_6) waren alle aufs sorgfältigste selbst hergestellt und auf ihre Reinheit geprüft worden (siehe Anhang).

Das TeO_2 löst sich nur wenig im Wasser; Na_2TeO_3 wird in wässeriger Lösung hydrolytisch gespalten, wofern man nicht einen großen Überschuß von NaOH zur Lösung verwendet. Die Spaltung des Salzes in NaOH und H_2TeO_3 hat natürlich eine partielle Ausscheidung des schwer löslichen TeO_2 zur Folge. Es ergibt sich also dasselbe Resultat wie bei Anwendung von TeO_2, nur die Konzentration an TeO_3-Ion wird in diesem Falle eine geringere sein, da der Hefesaft nur schwach alkalisch reagiert.

Auf Grund dieser Eigenschaft des TeO_2 wurde nun folgendes erwogen: Das TeO_2 wird in dem schwach alkalischen Hefesaft zunächst in einer gewissen Menge NaOH gelöst werden, die der Gleichgewichtskonzentration der reversiblen Gleichung:

$$2\,NaOH + TeO_2 \rightleftarrows Na_2TeO_3 + H_2O$$

oder: $$2\,\overset{-}{O}H + TeO_2 \rightleftarrows \overset{-}{Te}\overset{-}{O_3} + H_2O$$

„ : $$TeO_2 + H_2O \rightleftarrows 2\,H^+ + \overset{-}{Te}\overset{-}{O_3}$$

und: $$2\,H^+ + 2\,\overset{-}{O}H = 2\,H_2O$$

entspricht. In dem Maße als das Tellurit durch den Hefesaft reduziert wird, muß zur Erhaltung des Gleichgewichts eine neue Menge des TeO_2 mit dem Wasser in Reaktion treten. Dies wird solange sich fortsetzen, als der Hefesaft die Fähigkeit zur Reduktion besitzt. Da also die Konzentration des Indikators hier nie so hoch zu steigen vermag, daß eine Schädigung des Gär- und Reduktionsvermögens im Hefesaft eintritt, konnte erwartet werden, daß gerade das TeO_2 ein besonders gutes Bild des Reduktionsvermögens geben und die Aufstellung von Beziehungen zwischen Gär- und Reduktionsvermögen ermöglichen würde.

Die Ausführung der Versuchsreihe mit TeO_2 geschah nun wie bei den früheren Versuchen. Die Menge des TeO_2 für die einzelnen Versuche wurde so gewählt, als ob es sich um die Herstellung einer 0,001-, 0,01-, 0,1-molaren Lösung handelt, obwohl keine vollständige Auflösung erreicht wird. Es ist anzunehmen, daß der Einfluß auf die CO_2-Entwicklung bei allen drei Versuchen im Anfang derselbe sein wird, da die Konzentration die gleiche ist, solange nicht bei der geringsten TeO_2-Menge das ganze TeO_2 reduziert ist.

Das feingepulverte TeO_2 wurde also in Portionen zu 0,0016 g, 0,0159 g, 0,1595 g in je 1 ccm H_2O suspendiert und der Hefesaft hinzugefügt. Wie die hierhergehörige Tabelle 8 zeigt, entsprachen die Resultate den Erwartungen.

Im Anfang der Gärung zeigt sich eine bei allen drei Versuchen gleichmäßige Steigerung der CO_2-Bildung, die ca. 1200 Min. anhält. Dann folgt bei Versuch 48 eine Periode, in der die Gärung normal verläuft, da anscheinend das TeO_2 vollständig reduziert ist. Erst gegen das Ende folgt hier ein schnellerer Abfall, der wohl seine Ursache in der größeren Inanspruchnahme der Zymase am Anfang haben dürfte. Der Gärwert ist als normal zu bezeichnen, ebenso in Versuch 49, wo die vermehrte CO_2-Entwicklung nur etwas länger anhielt, um dann umso schneller und intensiver abzufallen. Nun sollte man für die stärkste absolute TeO_2-Menge ungefähr dasselbe erwarten, d. h. ein noch längeres Anhalten der Reizung und dann umso schnelleres Abfallen. Zum mindesten hätte doch die Steigerung ebensolange anhalten sollen, wie in dem vorhergehenden Versuch mit der geringeren TeO_2-Menge. Statt

dessen zeigt sich schon nach 1200 Min. eine Hemmung, gleich als ob der zugefügte Stoff in einer größeren Konzentration vorhanden wäre, und die insgesamt entwickelte CO_2 bleibt um 20 % hinter der beim Normalversuch zurück. Diese Tatsache sowohl, wie auch die Beobach-

Tabelle 8.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 0,1 ccm Toluol + verschiedene Mengen TeO_2 + 1 ccm H_2O.

Versuch Nr.	Zugesetztes TeO_2	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:								Gärwerte	
		200	470	1195	1755	2655	3115	4125	5630	7120	
47	0	0,046	0,144	0,389	0,534	0,700	0,760	0,851	0,930	**0,956**	
48	0,0016	0,050	0,151	0,425[1]	0,587	0,749	0,805	0,892	0,961	**0,978**	
49	0,0159	0,052[2]	0,155	0,433	0,599	0,771	0,822	0,889	0,925	**0,927**	
50	0,1595	0,050[3]	0,157	0,429	0,574	0,690	0,719	0,753	0,765	**0,765**	
		B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle (Minuten):									
		200	270	725	560	900	460	1010	1505	1490	
47	0	0,046	0,098	0,245	0,150	0,161	0,060	0,091	0,079	0,026	
48	0,0016	0,050	0,101	0,274	0,162	0,162	0,056	0,087	0,069	0,012	
49	0,0159	0,052	0,103	0,278	0,166	0,172	0,051	0,067	0,036	0,002	
50	0,1595	0,050	0,107	0,272	0,145	0,116	0,029	0,034	0,012	—	
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min., während obiger Zeiten:									
47	—	0,230	0,363	0,338	0,268	0,179	0,131	0,089	0,052	0,018	
48	0,0016	0,250	0,374	0,378	0,289	0,180	0,122	0,086	0,046	0,008	
49	0,0159	0,260	0,382	0,383	0,296	0,191	0,111	0,066	0,024	0,001	
50	0,1595	0,250	0,396	0,375	0,259	0,129	0,063	0,034	0,008	—	
		D. CO_2 im Normal Versuch gesetzt = 100, dann ist für:									Hemmungswert
48	0,0016	109	103	112	108	100	93	97	88	44	**102**
49	0,0159	113	105	114	111	107	85	74	46	6	**97**
50	0,1595	109	109	111	97	72	48	38	15	—	**80**

[1]) Teilchen am Boden schwarz, Fläche grau gefärbt. — [2]) Fl. schon dunkel. — [3]) Fl. schon merklich dunkel.

tung, daß die am Boden sich absetzenden TeO_2-Teilchen schwarz gefärbt wurden, führten zu der Überzeugung, daß die oben ausgeführte Betrachtung doch nicht ganz zutreffend ist, weil wir es hier mit einer direkten Wirkung auf feste Teilchen zu tun

haben, wobei sowohl der reduzible Stoff wie auch das Reduktionsprodukt fast nur in der festen Phase vorhanden sind. Betrachten wir ein TeO_2-Teilchen für sich, so wird sich um dieses herum eine an Tellurdioxyd gesättigte Schicht bilden, die aber wegen der Dickflüssigkeit des Saftes und weil die in den späteren Stadien für Durchmischung sorgende CO_2-Ausscheidung noch nicht eingesetzt hat, in unmittelbarer Nähe des TeO_2-Teilchens verbleiben und hier durch die schnell einsetzende Reduktionswirkung des Saftes reduziert wird.

Tabelle 9.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 0,1 ccm Toluol + 1 ccm H_2O.

Versuch Nr.	Zugesetztes TeO_2	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:				Gärwerte	
		185	1135	2805	4245	5609	
88	—	0,122	0,446	0,595	0,622	**0,632**	
89	0,1559 g	0,139	0,510	0,605	0,610	**0,612**	
		B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle (Min.):					
		185	950	1670	1440	1365	
88	—	0,122	0,324	0,149	0,027	0,010	
89	0,1559 g	0,139	0,371	0,095	0,005	0,002	
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min., während obiger Zeiten:					
88	—	0,066	0,341	0,089	0,019	0,007	
89	0,1559 g	0,075	0,391	0,057	0,035	0,002	
		D. CO_2 im Normal-Versuch gesetzt = 100, dann ist für:					Hemmungswert
89	0,1559 g	114	115	64	19	20	**97**

Das entstehende Te wird sich also auf dem TeO_2 absetzen, wie auch der Augenschein lehrt, und allmählich wird sich das ganze TeO_2-Teilchen mit einer Schicht von Te umgeben. Es ist nun klar, daß, je mehr sich Te absetzt, die Diffusion der tellurigen Säure durch das Te hindurch immer schwieriger werden wird; schließlich kommt ein Punkt, wo praktisch keine Lösung von TeO_2 mehr stattfindet und damit auch die Reduktion aufhört. Nun wird auch erklärlich, warum die Menge des festen TeO_2 nicht ohne Einfluß auf die CO_2-Entwicklung

war; denn dieser Einfluß ist im vorliegenden Falle offenbar von der Gesamtoberfläche des Tellurdioxydes abhängig, und diese ist natürlich umso größer, je mehr Teilchen vorhanden sind, vorausgesetzt, daß diese von gleicher Größe sind. Um die Richtigkeit dieser Ansicht zu prüfen, wurde später ein Parallelversuch zu Versuch 50 angesetzt (Tabelle 9, Versuch 89) mit der gleichen TeO_2-Menge, bei dem aber das TeO_2 nicht so fein gepulvert war. Hier mußte, weil die Oberfläche kleiner war, eine geringere Einwirkung stattfinden. Dies war in der Tat der Fall: die Gesamt-CO_2 betrug 97 %, war also fast normal, gegenüber 80 % bei dem früheren Versuch; die Flüssigkeit war schwarz gefärbt und die am Boden befindlichen Teilchen waren grau überzogen. Allerdings ist zu bemerken, daß das Gärvermögen des zum letzten Versuch verwendeten Saftes geringer war. Ferner muß auch hervorgehoben werden, daß möglicherweise die Alkalität des Saftes hier geringer gewesen ist, wodurch die Lösung des TeO_2 noch mehr erschwert worden wäre.

Sicher ist aber jedenfalls, daß durch das heterogene System unklare und unübersehbare Verhältnisse geschaffen werden, die eine weitere Verwendung des TeO_2 als untunlich erscheinen lassen.

Da, wie oben gesagt, beim Na_2TeO_3 derselbe Zustand erreicht wird und eine größere zur Verhinderung der Hydrolyse hinreichende Menge Natronlauge die Gärkraft zu sehr schädigen dürfte, wurde von seiner Verwendung Abstand genommen.

Eingehend wurde dagegen der Einfluß der Tellursäure und des Natriumtellurats untersucht, die den Vorteil besitzen, im Wasser sehr leicht löslich zu sein. Die Tellursäure wurde, den Konzentrationen 0,001, 0,01 und 0,1 molar entsprechend (H_6TeO_6, M. G. 229,5), abgewogen und in 1 ccm H_2O gelöst dem Hefesaft zugegeben.

Die Resultate mit Tellursäure sind in Tabelle 10 niedergelegt. Hier kehrt die bei Methylenblau beobachtete „Reizung“ wieder, wenigstens in der schwächsten Konzentration; jedoch ist sie nicht so bedeutend wie dort und läßt bald nach. Im weiteren Verlauf ist die Gärung bei 0,001 molar normal zu nennen. Auch bei der Konzentration 0,01 ist der Einfluß noch nicht so bedeutend.

Was endlich die Konzentration 0,1 betrifft, so bewegt sich die CO_2-Entwicklung zwischen 80 und 50 %, ist also ziemlich regelmäßig, und es hat den Anschein, als wenn nur ein Teil der Zymase aktionsunfähig geworden wäre, während der andere Teil seine unverminderte Gärkraft behalten hätte.

Auch mit Na_2TeO_4 wurde eine Versuchsreihe ausgeführt, bei der ausnahmsweise 0,01, 0,025, 0,05 und 0,1 molar Konzentrationen herge-

Tabelle 10.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 1 ccm H_2O + 0,1 ccm Toluol + (51): — ; (52): 0,0023 g Tellursäure; (53): 0,0230 g „ ; (54): 0,2295 g „

Versuch Nr.	Konzentration an Tellursäure	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:								Gärwerte	Bem.
		120	265	445	1130	1695	2660	4365	5640	7170	
51	0	0,016	0,071	0,144	0,400	0,570	0,768	0,973	1,058	**1,092**	—
52	0,001	0,023	0,076	0,147	0,400[1])	0,570	0,760	0,957	1,037	**1,066**	[1]) Schwache Schwärzung
53	0,01	0,018[2])	0,071	0,138	0,398	0,565	0,749	0,925	0,990	**1,009**	[2]) Schwach dunkel
54	0,1	0,010	0,055	0,105	0,263	0,352	0,458	0,576	0,619	**0,638**	Sofort Dunkelfärbung
		B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle:									
		120	145	180	685	565	965	1705	1275	1530	
51	0	0,016	0,055	0,073	0,256	0,170	0,198	0,205	0,085	0,034	—
52	0,001	0,023	0,053	0,071	0,253	0,170	0,190	0,197	0,080	0,029	—
53	0,01	0,018	0,053	0,067	0,260	0,167	0,184	0,176	0,065	0,019	—
54	0,1	0,010	0,045	0,050	0,158	0,089	0,106	0,118	0,043	0,017	—
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min., nach obigen Zeiten:									
51	0	0,133	0,379	0,406	0,374	0,301	0,205	0,120	0,067	0,022	—
52	0,001	0,192	0,360	0,394	0,369	0,301	0,197	0,116	0,063	0,019	—
53	0,01	0,150	0,366	0,372	0,380	0,296	0,191	0,103	0,051	0,021	—
54	0,1	0,083	0,311	0,278	0,231	0,158	0,110	0,069	0,034	0,011	—
		D. CO_2 im Normal-Versuch (51) = 100, dann ist für:									Hemmungswert
52	0,001	144	96	97	99	100	96	96	94	85	**98**
53	0,01	113	96	92	101	98	93	86	76	56	**93**
54	0,1	63	82	68	62	52	54	58	51	50	**59**

stellt wurden. Tabelle 11 zeigt eine schwach begünstigende Wirkung bei 0,01 und 0,025 mol, wahrscheinlich als Folge der Alkaleszenz, die nach **Buchner** einen solchen Einfluß ausübt. 0,1 mol. zeigt mit 48 %

Tabelle 11.

9 ccm Hefesaft + 3,6 g Glukose + 0,1 ccm Toluol +
- (78): 1 ccm H_2O
- (79): 0,0230 g Tellursäure + 1 ccm $\frac{2\,n}{10}$ NaOH
- (80): 0,0572 g „ + 1 „ $\frac{2\,n}{4}$ NaOH
- (81): 0,1148 g „ + 1 „ $\frac{2\,n}{2}$ NaOH
- (82): 0,2295 g „ + 1 „ 2 n NaOH

Versuch Nr.	Konzentration an Na_2TeO_4	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:							Gärwerte	Bem.
		215	445	1150	1725	2630	4085	5610	6970	
78	0	0,060	0,156	0,412	0,568	0,739	0,900	0,977	**0,996**	—
79	0,01 mol.	0,070[1]	0,171	0,440	0,599	0,769	0,921	0,993	**1,017**	[1]) Dunkelfärbung. Tellur braun
80	0,025 „	0,076	0,184	0,455	0,592	0,737	0,878	0,958	**1,010**	Dunkelfärbung kurz nach dem ersten Wägen
81	0,05 „	0,070	0,169	0,393	0,514	0,624	0,744	0,812	**0,869**	Dunkelfärbung sofort nach Zusammenbringen
82	0,1 „	0,001	0,043	0,150	0,218	0,291	0,366	0,413	**0,476**	Starke Ausfällung von Eiweiß im Anfang. Te violett
		B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle (Min.):								
		215	230	705	575	905	1455	1615	1360	
78	0	0,060	0,096	0,256	0,156	0,171	0,161	0,077	0,019	—
79	0,01 mol.	0,070	0,101	0,269	0,159	0,170	0,152	0,072	0,024	—
80	0,025 „	0,076	0,108	0,271	0,136	0,145	0,141	0,080	0,052	—
81	0,05 „	0,070	0,099	0,224	0,109	0,120	0,120	0,068	0,057	—
82	0,1 „	0,001	0,042	0,107	0,067	0,073	0,075	0,047	0,063	—
		C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Minute nach obigen Zeiten:								
78	0	0,279	0,418	0,363	0,271	0,189	0,111	0,048	0,014	—
79	0,01 mol.	0,326	0,439	0,382	0,277	0,188	0,105	0,045	0,018	—
80	0,025 „	0,354	0,470	0,384	0,236	0,160	0,097	0,050	0,038	—
81	0,05 „	0,326	0,430	0,318	0,190	0,133	0,082	0,042	0,042	—
82	0,1 „	0,005	0,183	0,152	0,117	0,081	0,052	0,029	0,046	—
		D. CO_2 im Normalversuch (79) gesetzt = 100, dann ist für:								Hemmungswert
79	0,01 mol.	117	105	105	102	99	94	94	—	**102**
80	0,025 „	127	112	106	87	85	88	104	—	**101**
81	0,05 „	117	103	88	70	70	75	88	—	**87**
82	0,1 „	2	44	42	43	43	47	61	—	**48**

eine stärkere Hemmung als die entsprechende Tellursäurelösung. Geringere Konzentrationen dagegen, selbst 0,025 mol. zeigen eher eine Beschleunigung, besonders am Anfang liegt ein begünstigender Einfluß der schwachen Alkaleszenz vor.

Tabelle 12.

9 ccm Hefesaft + 0,1 ccm Toluol + 3,6 g Glukose + { (144): 1 ccm H_2O ; (145/8): 0,1147 g Tellursäure + 1 ccm H_2O }

Versuch Nr.	Glukose g	Konzentration an Tellursäure	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten:					Gärwerte	
			310	1060	2530	3970	5545	8710	
144	3,6	0	0,147	0,493	0,772	0,878	0,934	**0,963**	
145/8	3,6	0,05 mol.	0,124[1])	0,416[1])	0,611[1])	0,670[1])	0,677	**0,679**	
			B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle:						
			310	750	1470	1440	1575	3165	
144	3,6	0	0,147	0,346	0,279	0,106	0,056	0,029	
145/8	3,6	0,05 mol.	0,124	0,292	0,195	0,059	0,007	0,002	
			C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min., nach obigen Zeiten:						
144	3,6	0	0,474	0,461	0,190	0,074	0,036	0,009	
145/8	3,6	0,05 mol.	0,401	0,389	0,133	0,041	0,004	—	
			D. CO_2 im Normalversuch (144) = 100 gesetzt, dann ist für:						Hemmungswert
145/8	3,6	0,05 mol.	84	84	70	56	13	7	**71**

[1]) Mittelzahlen aus mehreren Versuchen:

Versuch Nr. 145	124	0,418	0,610	0,670
„ „ 146	125	0,416	0,612	0,670
„ „ 147	124	0,414		
„ „ 148	122			

Später, gelegentlich der Bestimmungen des Reduktionsproduktes (B, 4) wurden noch einige hierher gehörige Versuche (Tabelle 12, 13) mit Tellursäure ausgeführt, bei denen eine Konzentration von 0,05 molar in Anwendung kam. Beide zeigen eine sehr gute Übereinstimmung: der Hemmungswert beträgt 71 %. Dieser Wert paßt zu den übrigen sehr gut.

Tabelle 13.

9 ccm Hefesaft + 0,1 ccm Toluol + verschiedene Menge Glukose + 0, bezw. 0,1147 g Tellursäure.

Versuch Nr.	Glukose g	Konzentration an Tellursäure	A. g CO_2, entwickelt nach Minuten: 215	1095	1640	2720	4060	Gärwerte 6830	Bemerkungen
135	3,6	0	0,131	0,548	0,702	0,845	0,933	**1,001**	—
136	3,6	0,05 mol.	0,112	0,458[1])	0,560	0,655	0,691	**0,708**	[1]) Beträchtliche Schwarzfärbung
137	1,8	0	0,179	0,595	0,670	0.721	0,756	**0,788**	—
138	1,8	0,05 mol.	0,139	0,469[2])	0,539	0,575	0,577	**0,582**	[2]) Beträchtliche Schwarzfärbung
139	0,9	0	0,196	0,377	0,394	0,405	0,411	**0,421**	—
140	0,9	0,05 mol.[3])	0,179	0,345	0,377	0,387	0,394	**0,398**	[3]) Sofort Schwarzfärbung
			B. g CO_2, entwickelt während der Zeitintervalle: 215	880	545	1080	1340	2770	
135	3,6	0	0,131	0,417	0,154	0,143	0,088	0,068	
136	3,6	0,05 mol.	0,112	0,346	0,102	0,095	0,036	0,017	
137	1,8	0	0,179	0,416	0,075	0,051	0,037	0,030	
138	1,8	0,05 mol.	0,139	0,330	0,070	0,036	0,002	0,005	
139	0,9	0	0,196	0,181	0,017	0,011	0,006	0,010	
140	0,9	0,05 mol.	0,179	0,166	0,032	0,010	0,007	0,004	
			C. mg CO_2, entwickelt pro 1 Min. nach obigen Zeiten:						
135	3,6	0	0,609	0,474	0,284	0,132	0,066	0,025	
136	3,6	0,05 mol.	0,521	0,393	0,187	0,088	0,027	0,006	
137	1,8	0	0,833	0,473	0,138	0,047	0,028	0,011	
138	1,8	0,05 mol.	0,647	0,375	0,128	0,033	0,001	0,002	
139	0,9	0	0,912	0,206	0,031	0,010	0,004	0,004	
140	0,9	0,05 mol.	0,833	0,189	0,059	0,009	0,005	0,001	
			D. CO_2 in den Normalversuchen (135, 137, 138) = 100 gesetzt, dann ist für die Tellursäureversuche:						Hemmungswert
136	3,6	0,05 mol.	85	83	66	66	41	25	**71**
138	1,8	0,05 „	78	79	93	71	—	—	**74**
140	0,9	0,05 „	93	93	188	92	—	—	**95**

In Tabelle 13 sind außerdem Versuche angeführt, bei denen die Zuckerkonzentration variiert wurde. Die Hemmung der Gärung beträgt also bei doppelt molarer Zuckerkonzentration 71 %, bei molarer 74 % und bei ½ molarer 97 %. Daraus geht hervor, daß solange genügend vergärbarer Zucker vorhanden ist, die Hemmung ungefähr die gleiche ist. Wenn aber weniger Zucker da ist, als vergoren werden kann, so wird, was leicht verständlich ist, die Hemmung geringer, der Gärwert nähert sich mehr dem normalen.

Bei der Ausführung dieser hiermit abgeschlossenen Versuche erwies es sich als ein großer Glücksumstand, daß bei allen Versuchsreihen, wenigstens annähernd Säfte von demselben Gärwert Verwendung finden konnten. Dies ist nämlich, wie spätere Versuche mit geringerwertigem Saft zeigten, erforderlich, um vergleichbare Werte zu erhalten.

In der am Schluß dieses Abschnittes folgenden Übersicht sind für die einzelnen reduzierbaren Stoffe die Hemmungswerte bei den betreffenden Konzentrationen zusammengestellt.

Tabelle 14.

Konzentration	0,001	0,01	0,02	0,025	0,04	0,05	0,1 mol.
Methylenblau . . .	91	86	84	—	64	—	26
Indigkarmin . . .	89	59	—	—	0,5	—	0
Na-Thiosulfat . . .	101	97	—	—	—	—	30
Selenige Säure . . .	109	70	—	—	—	—	0; 0,5
Na-Selenit	101	74	—	—	—	—	0,4
Tellurdioxyd . . .	(102)	(97)	—	—	—	—	(80)
Tellursäure	98	93	—	—	—	71	59
Na-Tellurat	—	102	—	101	—	87	48

3. Einfluß reduzierbarer Stoffe auf das Verhältnis Alkohol : CO_2.

Nachdem durch die CO_2-Bestimmungen eine allgemeine Orientierung über die Wirkungsweise verschiedener reduzierbarer Stoffe auf die Gärung gewonnen war, konnte an die Hauptaufgabe dieser Arbeit herangetreten werden. Erst durch genaue, gleichzeitig in einem Versuch ausgeführte Alkohol- und CO_2-Bestimmungen konnte ein Urteil darüber gewonnen werden, inwieweit die Gärungs- mit den Reduktionserscheinungen in Zusammenhang stehen. Durch die CO_2- oder Alkoholbestimmungen in verschiedenen Portionen allein ist es unmöglich zu entscheiden, ob die durch gewisse reduzierbare Substanzen

hervorgebrachten Oxydationen in den Gärungsmechanismus eingreifen oder ob die Substanzen lediglich eine hemmende Wirkung auf die Gärung ausüben, ohne daß das Verhältnis der beiden Produkte geändert wird.

Methodik und Apparatur.

Bei der Ausführung dieser quantitativen Bestimmungen konnte die CO_2 nicht einfach durch den Gewichtsverlust bestimmt werden (denn es kam hier nicht auf die Differenzen, sondern auf die absoluten Mengen an), zumal da es sich infolge der schwierigeren Bestimmbarkeit des Alkohols erforderlich machte, zur Erzielung größerer Genauigkeit erheblich größere Mengen von Hefesaft und infolgedessen auch eine größere Apparatur anzuwenden. Auch war es infolge der langwierigen Operation zur Isolierung des Alkohols aus der Gärflüssigkeit unmöglich, gleichzeitig mehr als einen Versuch anzusetzen und Versuchsreihen zu bilden. Man mußte sich mit jeweilig einem Versuch begnügen und konnte dies umso leichter tun, als ja aus den vorläufigen CO_2-Versuchen schon die Wahl für den geeignetsten Stoff und die geeignete Konzentration getroffen werden konnte.

Immerhin war die Bestimmung der CO_2 verhältnismäßig einfach; sie konnte durch die Gewichtszunahme eines Kaliapparates, der an den Gärkolben unter Zwischenschaltung eines wasserentziehenden Mittels angeschlossen werden konnte, bestimmt werden. Erheblich mehr Schwierigkeiten bot die Alkoholbestimmung, zumal wegen des unvermeidlichen Toluols.

Alkoholbestimmung: Für die quantitave Alkoholbestimmung kommen hauptsächlich physikalisch-chemische Methoden in Betracht. Am meisten angewendet wurde von jeher die Bestimmung des spezifischen Gewichts der wässerigen Alkohollösungen. Neben ihr verdienen noch die kryoskopische und die refraktometrische Bestimmung einige Beachtung.

Für die refraktometrische Bestimmung, die recht einfach und bequem erscheint, haben Doroszewski und Dworzancyk[1]) eine Tabelle ausgearbeit, die aus dem mit einem Eintauchrefraktometer festgestellten Brechungsvermögen direkt den %-Gehalt des vorhandenen Alkohols abzulesen gestattete. Jedoch wurde die Hoffnung, die auf diese Methode gesetzt wurde, nicht erfüllt. Stichproben, die mit gegebenen Mengen Alkohol ausgeführt wurden, wobei ein Refraktometer nach Pulfrich in Anwendung kam, ergaben teilweise beträchtliche Abweichungen. Da auch Störungen durch Auflösung der Verkittung infolge des Alkohols sich bemerkbar machten, wurde von einer weiteren Verfolgung Abstand genommen. Beiläufig wurde gefunden, daß Zusatz

---

[1]) Journ. Russ. Phys.-Chem.-Ges. **40**, 101—25; (Chem. Centralbl. 1908, I, **2**, S. 1375).

von Toluol keinen meßbaren Einfluß auf das Brechungsvermögen einer ca. 10 proz. Lösung von Alkohol in Wasser hat.

Die kryoskopische Methode, die von Gaunt[1]) ausgearbeitet und von diesem als recht bequem und elegant bezeichnet worden war, wurde ebenfalls auf ihre Verwendbarkeit für den vorliegenden Zweck geprüft. Es hatte zunächst tatsächlich den Anschein, als ob man mit dieser Methode in kürzester Zeit eine Alkoholbestimmung durchführen könne. Bei mehreren Bestimmungen mit derselben Mischung hintereinander zeigten sich aber mitunter ganz beträchtliche Differenzen, die auf die mehr oder minder große Unterkühlung zurückzuführen waren. Wollte man diese durch Impfen mit Eis verhindern, so hätte man für die dadurch bewirkte Verringerung der Konzentration eine Korrektur anbringen müssen, was zu umständlich erschien. Wendet man das Impfen nicht an, so läßt sich bei einer konstanten Außentemperatur von -8^0, wie Gaunt vorschreibt, eine gleichmäßige Unterkühlung nur schwer erreichen, und der beim plötzlichen Hinaufschnellen des Quecksilberfadens erreichte höchste Punkt ist schwankend. Die je nach dem Grad der Unterkühlung verschiedene Konzentrierung der Flüssigkeit, die durch das Ausfrieren des Wassers eintritt, verursacht, daß der Quecksilberfaden überhaupt nicht so hoch steigt. Das Kühlbad bewirkt, daß sich mehr Eis bildet, infolgedessen der Faden wieder sinkt. Die Schwankungen bei der Einstellung läßt die folgende Tabelle erkennen:

Gefrierpunktserniedrigung für 7,90 % Alkohol-Lösung

Außenbad-Temperatur	Unterkühlung	Gefrierpunkt
-8^0	$0{,}2^0$	$1{,}605^0$
-7^0	$0{,}3^0$	$1{,}627^0$
-8^0	$0{,}1^0$	$1{,}592^0$

Wollte man diese Übelstände in exakter Weise vermeiden, und die Gefrierpunktserniedrigung mit peinlichster Genauigkeit bestimmen, so würde darunter die Methode an Bequemlichkeit und Eleganz beträchtlich einbüßen, und dürfte sich wohl dann kaum, wie Gaunt berichtet, in 5 Minuten durchführen lassen. Zusatz von Toluol hatte einen ziemlich großen Einfluß, schon auf reines Wasser, trotz der geringen Löslichkeit:

Gefrierpunkt von H_2O : $5{,}060^0$
$+$ 0,1 ccm Tol : $5{,}039^0$
$+$ 0,4 ccm Tol : $5{,}032^0$

So blieb also nach diesen Erfahrungen nur die etwas zeitraubende Methode durch Bestimmung des spezifischen Gewichts übrig. Sie wurde ausgeführt mit einem Ostwald-Sprengelschen Pyknometer von ca. 21 ccm Inhalt, bei konstanter Temperatur von 15^0. Von verschiedenen Lösungen, die durch Verdünnen von reinem Alkohol hergestellt waren, dessen Prozentgehalt durch Bestimmung des spezifischen Gewichts zu 97,63 gefunden wurde, wurde das spezifische Gewicht festgestellt und aus der Tabelle von Windisch[2]) die zugehörige Alkoholkonzentration abgelesen; die erhaltenen Werte zeigten eine gute Übereinstimmung:

---

[1]) Gaunt, Z. f. analyt. Chemie, **44**, 1905, S. 106.

[2]) Abderhalden, Handbuch der bioch. Arbeitsmethoden. Bd. 2, S. 5 f. Diese Tabelle gibt die Alkoholkonzentration für die nicht auf den luftleeren Raum reduzierten spezifischen Gewichte an. Deshalb ist überall das spezifische Gewicht, da es nicht das wahre ist, mit s′ bezeichnet.

gegeben	gefunden	
3,594 g	3,60 g	
7,776 g	7,77 g	(Weitere Werte s. u.!)

Es ist hier noch darauf einzugehen, wie der Zusatz von Toluol das spezifische Gewicht verändert.

Während Buchner für die Alkoholbestimmungen überhaupt auf die Anwendung des Toluols als Antiseptikum verzichtet und dafür das Arsenit anwendet, wird von Palladin und seinen Schülern das ausgeschiedene Toluol nach der ersten Destillation im Scheidetrichter getrennt und der in der Flüssigkeit gelöst bleibende Anteil vollständig unberücksichtigt gelassen. Tatsächlich war dieser, wie sich bei geeigneten Versuchen (Bestimmung des spezifischen Gewichts von Alkohol-Wassermischungen einmal ohne Toluol, dann mit Toluol, gesättigt) ergab, so gering, daß der dadurch verursachte Fehler vernachlässigt werden konnte. Übrigens wurde das Toluol meist schon nach der ersten Destillation abgetrennt, so daß infolge der weiteren Destillationen bei der spezifischen Gewichtsbestimmung überhaupt keine an Toluol gesättigte Lösung mehr vorlag.

Weitere Versuche, bei denen eine bekannte Menge Alkohol mit ca. 150 ccm Wasser und 1 ccm Toluol (entsprechend den bei den Gärversuchen angewandten Mengen) unter Durchleiten von Wasserdampf langsam destilliert wurde, zeigten, daß das auf der Oberfläcbe schwimmende Toluol trotz seines höheren Siedepunktes (ca. 113°) mit dem Alkohol zuerst überging.

Das zunächst im Alkohol gelöste Toluol wurde bei der weiteren Destillation durch das hinzukommende Wasser als weißliche Emulsion ausgefällt. Dieser Zustand ändert sich auch nach eintägigem Stehen nicht; eine Trennung im Scheidetrichter ist natürlich dann unmöglich. Durch Filtrieren auf einem vorher angefeuchteten Filter kann das Toluol zwar von der Flüssigkeit getrennt werden, aber diesbezügliche Versuche ergaben, daß eine derartige Vermehrung der Oberfläche eine Verdampfung des Alkohols zur Folge hat.

		Verlust	ca
Wasser-Alkoholmischung:	7,99 g Alkohol		
nach 1 mal Filtrieren	7,88 g	0,11 g	1,4 %
„ 2 „ „	7,83 g	0,05 g	0,5 %
Andere Mischung	7,36 g		
nach 1 mal Filtrieren	7,28 g	0,08 g	1 %

Bei einem anderen Destillationsversuch wurde die Vorlage durch eine Eiskochsalzmischung gekühlt, so daß am Schluß der Destillation das

Destillat gefroren war. Dadurch wurde die Bildung einer Emulsion verhindert und es konnte das Toluol im Scheidetrichter abgetrennt werden.

Für die Destillation ist noch zu bemerken, daß diese so langsam als möglich durchzuführen ist. Überschnelle Destillation hat zur Folge, daß unverhältnismäßig große Mengen abdestilliert werden müssen, um den Alkohol quantitativ abzutrennen.

$2^1/_2$-stündiges, langsames Destillieren unter Durchleiten von H_2O-Dampf bis zu 99,5° erwies sich als am besten geeignet, wie die folgenden Versuche zeigen:

Dauer der Destillation			gef.
45 Min.	99°	1. Dest.	3,90 g
30 „	98,5°	2. „	0,40 g
75 „		3. „	0,11 g
2 Stdn. 30 Min.		gefunden	4,41 g
		gegeben	4,42 g
		Diff.	— 0,01 g

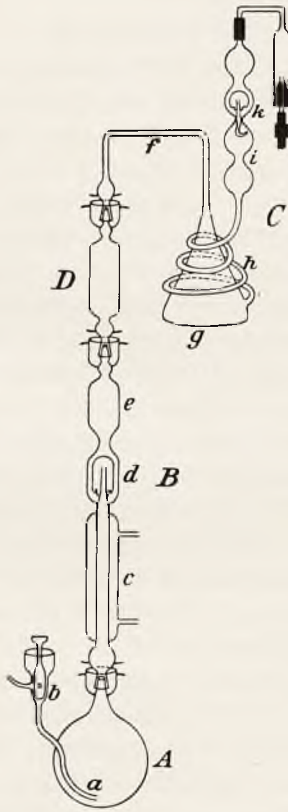
Dauer der Destillation			gef.
75 Min.	99°	1. Dest.	4,79 g
80 „	99,5°	2. „	0,07 g
2 Stdn. 35 Min.		gefunden	4,86 g
		gegeben	4,83 g
		Diff.	+ 0,03 g

Apparatur: Das Hauptaugenmerk mußte nun, nachdem die Bestimmung des Alkohols genügend sichergestellt war, auf die Konstruktion eines geeigneten Gärapparates gerichtet sein. Auf die diesbezüglichen Versuche soll nicht weiter eingegangen werden. Es sei nur erwähnt, daß die geschaffene Apparatur an dem Nachteil litt, daß die einzelnen Apparatteile durch Gummischläuche miteinander in Verbindung standen, was bei der langen Dauer der Versuche eine erhebliche Diffusion der Gase befürchten ließ. Ein geeigneter Ersatz wurde schließlich in dem 1909 von Buchner und Meisenheimer[1]) konstruierten Gärapparat gefunden; dieser bietet den großen Vorteil, daß alle Verbindungen als Glasschliffe hergestellt und vertikal angebracht sind, so daß durch Quecksilber ein vollkommener Abschluß ermöglicht werden kann. Da die Arbeit

[1]) Buchner u. Meisenheimer, Über die Rolle der Milchsäure bei der alkoholischen Gärung des Zuckers. Landw. Jahrb. **38**, Ergänz. Bd. V, S. 278.

von Buchner und Meisenheimer, die die Zeichnung und Erklärung enthält, vielfach schwer zugänglich sein dürfte, sei es gestattet, den Apparat[1]) an Hand der Zeichnung kurz zu erklären. Dazu liegt auch der Anlaß vor, daß der Apparat in einigen Einzelheiten von der ursprünglichen Form abweicht.

Der nebenstehend abgebildete Apparat besteht aus 3 bezw. 4 Teilen, die durch gut passende Glasschliffe luftdicht aneinandergefügt sind, dem Gärkolben *A*, der Trockenvorrichtung mit Kühlrohr *B*, dem Kaliapparat *C* und einem zwischen *B* und *C* eingeschalteten Stück *D*. Der Gärkolben *A* faßt ca. ³/₄ l und dient zur Aufnahme der ca. 100 ccm im ganzen betragenden Gärflüssigkeit; ein Gaszuleitungsrohr (*a*) ist in ihn eingeschmolzen und durch einen Hahn mit Quecksilbernapf nach außen abgeschlossen. Die Füllung geschieht durch den Hals des Kolbens. Hieran schließt sich die Trockenvorrichtung, die aus einem Kühlrohr *c*, einem Schwefelsäureverschluß *d* und einem Chlorcalciumrohr *e* besteht. Die Einführung der Schwefelsäure (5—10 ccm) erfolgte, nachdem vorher gut getrocknet war (auch alle übrigen Teile wurden vorher mit Wasser gereinigt und mit Alkohol und Äther und durch darauffolgendes längeres Durchleiten von Luft getrocknet) von oben her vorsichtig mittels einer Pipette; dann wurde *e* unten mit einem Wattebausch verschlossen und mit nicht zu groben $CaCl_2$-Stücken gefüllt. Um die Dichtigkeit der Apparatur bis hierher und die quantitative Aufnahme des das Kühlrohr passierenden Alkohols durch die H_2SO_4 und das $CaCl_2$ zu prüfen, wurde eine abgewogene Menge Alkohol mit 100 ccm H_2O in diesem Apparat bei 25⁰ 6 Tage lang stehen gelassen und ein langsamer Luftstrom (ca. 15 Gasblasen pro Minute) durchgeleitet.



Nach Unterbrechung des Versuchs wurde einerseits der im Kolben verbliebene, andererseits der durch das $CaCl_2$ und die Schwefelsäure

[1]) Der Apparat wurde von der Firma R. Goetze, Leipzig, hergestellt.

absorbierte Alkohol bestimmt. Das Resultat zeigt, daß die Hauptmenge des Alkohols im Gärgefäß zurückbleibt und daß der Alhohol fast quantitativ bestimmt werden kann.

Gegeben: 5,813 g 97,80 proz. Alkohol = 5,683 g abs. Alkohol.		
Gefunden im Gärgefäß	5,52 g	
durch H_2SO_4 und $CaCl_2$ absorbiert	0,14 g	
	5,66 g	ca. 0,4 % Verlust.

Zur Bestimmung der CO_2 dient der Kaliapparat *C*, der der Reihe nach aus dem Verbindungsrohr *f*, dem Kolben *g*, dem Schlangenrohr *h*, der Doppelkugel *i* und dem Schwefelsäureverschluß *k* besteht. Die Füllung dieses Teiles erfolgte derart, daß *k* an eine Saugpumpe angeschlossen wurde, während *f* in eine ca. 40 proz. KOH-Lösung tauchte und der ganze Apparat aufrecht stand. Sobald die KOH im Schlangenrohr hochzusteigen begann, wurde die Zufuhr unterbrochen und unter langsamem Saugen das Spiel im Schlangenrohr kontrolliert, eventuell noch einmal mit etwas KOH nachgesaugt. Dann wurde das Ende von *f* trocken gewischt und einige $CaCl_2$-Stückchen mit einem Wattebausch eingeführt, um ein Zurückdiffundieren des Wasserdampfes aus dem KOH-Apparat zu verhindern. Endlich wurden in den Verschluß noch 5 ccm H_2SO_4 eingeführt. Die Menge der KOH betrug ca. 120—150 ccm, das Gesamtgewicht des fertigen KOH-Apparates 300—350 g.

Zwischen KOH-Apparat und Trockenvorrichtung war nun noch ein 4. Teil *D* eingeschaltet, der allerdings erst später hinzugefügt wurde. Er diente bei den S-Versuchen zur Adsorption des gebildeten H_2S und war mit $CuSO_4$-Bimssteinstücken angefüllt. Zum Abschluß gegen außen diente schließlich noch ein an den Kaliapparat mittels eines Gummischlauches angeschlossenes $CaCl_2$-Röhrchen.

Wie schon angedeutet, mußten, um gut bestimmbare Mengen von Alkohol zu erhalten, diese Versuche in erheblich größerem Umfange vorgenommen werden. Der Einfachheit halber wurde die zehnfache Menge der bei den früheren Bestimmungen angewendeten gewählt, also 90 ccm Hefesaft, 10 ccm H_2O (später auch 100 ccm Hefesaft ohne H_2O) 36,02 g Glukose, 1 ccm Toluol und eventuell das Zehnfache des reduzierbaren Stoffes.

Gärversuch: Nachdem der Kolben auf diese Weise beschickt war, wurde an ihn die schon vorher vorgerichtete Trockenvorrichtung durch den eingefetteten Glasschliff angeschlossen und auf die gleiche Weise mit dem vorher auf 1 Centigramm genau gewogenen KOH-Apparat verfahren. Die Quecksilbernäpfe wurden mit Hg gefüllt, die Glas-

ansätze mit Gummiringen versehen und endlich mittels Gummischlauchs ein $CaCl_2$-Rohr an den KOH-Apparat angeschlossen. Die so hergerichtete Apparatur wurde in den Thermostaten von 25° soweit eingesenkt, daß der Gärkolben vollständig mit Wasser bedeckt war. Das Kühlrohr wurde während der ganzen Dauer des Versuches in Gebrauch gesetzt, um ein allzustarkes Überdestillieren des Toluols zu vermeiden.

Nun war nichts weiter notwendig, als von Zeit zu Zeit den Apparat zu kontrollieren, insbesondere den Stand der Kalilauge im Schlangenrohr zu beobachten. Nach 1—2 Stunden begann gewöhnlich die CO_2-Entwicklung merklich einzusetzen. Dann wurde der Apparat so geneigt, daß die untere Kugel halb mit der Lauge gefüllt war. Eine unausgesetzte Beobachtung am Anfang, wie Buchner und Meisenheimer schreiben, war nicht notwendig, seitdem die eine Kugel zwischen KOH und H_2SO_4 des Buchnerschen Apparates durch zwei Kugeln ersetzt war. Bei den ersten Versuchen, als diese Verbesserung noch nicht angebracht war, passierte es allerdings einigemal, daß entweder die KOH in die H_2SO_4 hinaufgedrungen war, wodurch natürlich der Versuch unbrauchbar wurde, oder daß (während der Nacht) die ganze KOH zurückgelaufen war, so daß ein Entweichen der CO_2 zu befürchten war und der Versuch ebenfalls als mißglückt angesehen und abgebrochen werden mußte. Um derartige unliebsame und zeitraubende Zwischenfälle zu vermeiden, wurde eben die Doppelkugel eingeführt. Nebenbei sei noch erwähnt, daß das Schlangenrohr nach den ersten Versuchen etwas steiler gezogen wurde, um einen leichteren Wechsel der KOH zu ermöglichen. Endlich wurde an das Ende des Apparates noch ein Stück Gummischlauch mit Quetschschraube angeschlossen; der Zweck war der, daß ein plötzliches Ausgleichen des Überdrucks in dem KOH-Apparat vermieden wurde und das Spiel der KOH im Schlangenrohr sich regelmäßiger gestalten konnte. Der Quetschhahn wurde der CO_2-Entwicklung gemäß verstellt und gegen das Ende, wenn die CO_2-Entwicklug fast ganz nachgelassen hatte, oft ganz verschlossen, um ein allzustarkes Eindringen der Luft von außen zu verhindern.

Nach 4 bezw. 2½ tägiger Dauer wurde der Versuch abgebrochen. Dies geschah dadurch, daß der ganze Apparat aus dem Thermostaten herausgenommen und in ein vorher auf etwa 30° angeheiztes Wasserbad gesenkt wurde. Bei dieser Temperatur wurde etwa 1½ bis 2 Stunden lang ein langsamer CO_2-freier Luftstrom durchgeleitet und dann unter weiterem Durchleiten das Wasserbad allmählich auf 100° erhitzt. Nach ½ Stunde wurde die Luftzuleitung abgebrochen, der KOH-Apparat aus den Verbindungen mit der Trockenvorrichtung und dem Chlorcalciumrohr

gelöst, von Fett und Hg gereinigt und gewogen. Bisweilen hatte sich etwas Toluol kondensiert; dieses mußte natürlich vor dem Wägen durch Durchleiten CO_2-freier, trockner Luft entfernt werden; jedoch betrug der Unterschied nur 0,02, höchstens 0,03 g.

Bei späteren Versuchen wurde das destillierende Toluol durch feinzerschnittene Paraffinstückchen, die in den oberen Teil des $CaCl_2$-Rohres im Mittelstück eingeführt waren, zurückgehalten. Die übrige Apparatur wurde nach dem Erkalten ebenfalls auseinandergenommen und der untere Teil des Kühlrohres in den Gärkolben ausgespült.

Nun begann die schwierigste Operation, die Destillation des Gärkolbeninhaltes.

Destillation: Schon das Herausbringen des durch das Erhitzen zu einem festen Eiweißklumpen zusammengesinterten Hefesaftes war nicht so leicht; nur unter Zusatz erheblicher Wassermengen und durch kräftiges Durcheinanderrühren mit einem Glasstab gelang es, den Kolbeninhalt in den Destillationskolben zu bringen. Diesem Umstand mußte natürlich durch Anwendung eines genügend großen Kolbens Rechnung getragen werden. Erhitzt wurde der Destillationskolben durch ein Wasserbad, dem allmählich eine immer größere Menge von $CaCl_2$ zur Erhöhung des Siedepunktes beigegeben wurde. Sobald nun die zur Überdestillation des Alkohols nötige Temperatur erreicht war, zeigte sich eine höchst unangenehme Erscheinung: der Saft begann, jedenfalls hauptsächlich infolge der hohen Zuckerkonzentration, lebhaft zu schäumen, und wenn nicht immer der Kolben durch kaltes Wasser abgeschreckt wurde, stieg der Schaum durch den Kühler in die Vorlage, wodurch natürlich der Zweck der Destillation vereitelt war. Noch schlimmer war es, wenn Wasserdampf durchgeleitet wurde. Anwendung eines größeren Kolbens (5/4 l) brachte nur wenig Besserung. Von den verschiedenen Versuchen, durch Zusätze die Schaumbildung zu vermeiden, sei nur erwähnt, daß Alkalizusatz günstiger wirkte als Zusatz von H_2SO_4. Selbst eine auf freundlichen Rat von Herrn Dr. Brauer, Miltitz, hergestellte elektrische Schaumzerstörungsvorrichtung, die aus einem durch den elektrischen Strom zum Glühen gebrachten Pt-Draht bestand und in den Kolben eingebaut wurde, hatte nicht den gewünschten Erfolg.

Zum guten Ende ließ die Beobachtung, daß der Kolbeninhalt beim Vertreiben der CO_2 vor der Verdünnung mit Wasser nur wenig oder gar nicht schäumt, den glücklichen Gedanken reifen, den Alkohol direkt aus dem Gärkolben abzudestillieren. Mit Hilfe eines geeigneten Fraktionieraufsatzes gelang es, dies zu verwirklichen. Der Schliff dieses Aufsatzes war auf den des Gärkolbens aufgepaßt und durch An-

einanderschließen mit Gummiringen und Verschließen mit Quecksilber wurde ein guter Abschluß erzielt. Mit dieser Apparatur gelang es, in viel kürzerer Zeit den Alkohol quantitativ herüberzubringen. Am Ende der ca. 2—3stündigen Destillation wurde noch eine Zeitlang Wasserdampf durchgeleitet, um die letzten Spuren des etwa im Dampfraum verbliebenen Alkohols zu entfernen.

Das Destillat wurde regelmäßig in einem durch Eiswasser oder Eis-Kochsalzmischung gekühlten Kölbchen aufgefangen oder auch gleich in dem zur nächsten Destillation dienenden Fraktionierkolben.

Die Isolierung des in der Trockenvorrichtung befindlichen Alkohols gestaltete sich erheblich einfacher. Das $CaCl_2$ wurde in ein Gläschen herausgeschüttet, die H_2SO_4 nach Entfernung des Wattepfropfens (der ebenfalls mit in den Destillationskolben kam) in den unter Eiskühlung stehenden Fraktionierkolben gegeben und das ganze Kühlrohr mit Wasser in den Kolben nachgespült. Nachdem das $CaCl_2$ im Wasser gelöst war, wurde es ebenfalls in den Destillationskolben gegeben.

Das hierdurch erhaltene Destillat wurde mit dem Hauptdestillat vereinigt und unter Zusatz von wenig H_2SO_4 zum zweitenmal destilliert. Eine dritte Destillation erfolgte unter Zusatz von NaOH und eine vierte ohne Zusatz. Das Toluol wurde bei geeigneter Gelegenheit im Scheidetrichter abgeschieden. Eine Prüfung des Rückstandes auf Alkohol mit Hilfe der Jodoformprobe wurde anfangs immer vorgenommen. Da diese aber zu empfindlich ist und ein Urteil über die vorhandenen Mengen abzugeben nicht gestattet, wurde später nach Buchners Vorschlag jedesmal etwas über die Hälfte der Flüssigkeit überdestilliert.

Selbstgärung. Die auf diese Weise gefundene Menge Alkohol ist jedoch nicht ausschließlich auf das Konto des Gärungsversuches zu setzen. Es ist zu bedenken, daß der verwendete Saft infolge der bei seiner Herstellung auftretenden „Selbstgärung“ (Glykogenvergärung) eine der Stärke dieses Vorgangs entsprechende Menge Alkohol enthält, während die CO_2 entwichen ist. Die im Saft ursprünglich vorhandene Menge Alkohol mußte natürlich auch bestimmt werden. Dies geschah derart, daß der Saft im Überschuß dargestellt und eine bestimmte Menge des Saftes sofort destilliert wurde. Diese Destillation wurde einmal vorgenommen, indem zu dem Saft direkt etwas H_2SO_4 zugesetzt wurde und das zweite Mal unter Zusatz von etwas NaOH, bisweilen auch ein drittes Mal ohne Zusatz. Die hierdurch gefundene Alkoholmenge war je nach der Trockenhefe, die zur Herstellung des Saftes gedient hatte, entsprechend dem verschiedenen Glykogengehalt derselben, verschieden. Aber für dieselbe Trockenhefe blieb sie innerhalb der Zeit, wo sie zur

Verwendung gelangte, nahezu konstant, ein Beweis dafür, daß das Glykogen der Trockenhefe während des Lagerns nicht vergoren wird. Der durch Selbstgärung während der Mazeration im Saft entstandene Alkohol brauchte also nicht vor jedem Versuch bestimmt zu werden, sofern nur dieselbe Trockenhefe zur Verwendung kam. Die gefundenen Alkoholmengen seien, auf 90 ccm Hefesaft berechnet, hier zusammengestellt:

Saft aus	I. Best.	II. Best.	Mittel
Trockenhefe Nr. 1:	0,70	—,—	0,70
„ 2:	0,78	—,—	0,78
„ 3:	0,17	0,14	0,16
„ 4:	0,14	—,—	0,14
„ 7:	0,62	0,65	0,64

Der Glykogengehalt der Trockenhefe war also recht verschieden.

Wie aus den unten angeführten Hauptversuchen ersichtlich ist, wurde durchgängig mehr CO_2 als Alkohol gebildet, während nach der Gärungsgleichung das Verhältnis umgekehrt sein sollte. Dies wurde anfangs einem Versuchsfehler zugeschrieben. Wasser kann ja in der Tat beträchtliche Mengen von CO_2 absorbieren und der Hefesaft, infolge seiner dickeren Konsistenz, könnte vielleicht noch mehr davon zurückhalten. Es wurde deshalb die CO_2 auch im unvergorenen Saft bestimmt. Dabei stellte sich heraus, daß nur 0,03 g CO_2 in 90 ccm Hefesaft enthalten waren. Ein zweiter und dritter Versuch bestätigte dies. Eine Erklärung für diese geringe CO_2-Menge ist dadurch gegeben, daß durch das Filtrieren und das Ausfrieren des Saftes die größte Menge der CO_2 schon entwichen ist. Dies konnte auch unmittelbar durch das Auftreten kleiner Gasbläschen beim Auftauen des Saftes beobachtet werden.

Geruch des Destillates: An dieser Stelle sei noch eine Erscheinung erwähnt, die auch bei den übrigen Destillationen auftrat, aber bei der unmittelbaren Destillation des Hefesaftes besonders stark war. Das Destillat des Hefesaftes zeigte nämlich einen eigenartigen, unangenehmen Geruch, der auch durch mehrmaliges Destillieren nicht beseitigt werden konnte. Es lag die Befürchtung nahe, daß dieser Geruch von Stoffen herrühre, die eventuell auf das spezifische Gewicht der zur Dichtebestimmung verwendeten Alkohol-Wassermischung einen Einfluß ausüben und dadurch einen falschen Alkoholgehalt vortäuschen könnten, zumal da das Destillat bisweilen etwas trüb war. Die Grundlosigkeit dieser Befürchtung stellte sich durch folgenden Versuch heraus.

Es wurde einem zur Destillation bestimmten Saft (45 ccm) eine abgewogene Menge Alkohol zugefügt und das Gemisch, wie sonst, dreimal destilliert. Das Ergebnis war folgendes:

Gegeben: 8,556 g 97,26 % Alkohol	=	8,32 g abs. Alk.
In 45 ccm Hefesaft (Hefe 3)	=	0.08 g „ „
Gegeben:		8,40 g abs. Alk.
Gefunden: A. Destillat 42,943 g		
Spez. Gew. s′ = 0,972275 = 19,53 %	=	8,39 g abs. Alk.
B.: (Nachlauf) 28,672 g		
s′[1]) = 0,999975 = 0,01 %	=	0,00 g „ „
Gefunden:		8,39 g abs. Alk.

Auch hier hatte das Destillat (sowohl A als B) jenen üblen Geruch und eine schwache Trübung. Trotzdem ist die Alkoholbestimmung quantitativ. Die Stoffe, die obige Erscheinungen verursachen, verändern das spezifische Gewicht der Alkohol-Wassermischung also nicht.

Einzelversuche.

Versuch I. Saft aus Trockenhefe Nr. 1.

A. Unvergorener Saft: 80 ccm Alkohol best.: Nach 3 mal. Destill. 25,227 g Destillat vom spezifischen Gewicht s′ = 0,99545 = 2,48 % = 0,63 g Alkohol auf 80 ccm = 0,70 g auf 90 ccm Hefesaft.

B. Gärversuch: 90 ccm Hefesaft + 10 ccm H_2O + 36 g Glukose + 1 ccm Toluol. 25°. Am 2. Tage war die KOH aus dem Schlangenrohr zurückgelaufen, Versuch abgebrochen.

Versuch II. Saft aus Trockenhefe Nr. 2.

A. Unvergorener Saft: 90 ccm Alkohol best. 2. Destillat: 73,622 g; spezifisches Gewicht s′ = 0,9980 also 1,06 % = 0,78 g Alkohol.

B. Gärversuch: 90 ccm Saft + 10 H_2O + 36 g Glukose + 1 ccm Toluol. 25°. 4 Tage.

a) CO_2-Best.: 5,68 g—0,03 g = 5,65 g CO_2.

b) Alkoholbest.: 3. Destillat: 50,428 g; spezifisches Gewicht s′ = 0,98138, also 11,98 % = 6,04 g Alkohol. Hiervon abzuziehen, weil im Saft vorher vorhanden: 0,78 g daher: 5,26 g Alkohol.

---

[1]) Das spezifische Gewicht ist nicht auf den luftleeren Raum reduziert, deshalb mit s′ bezeichnet. Die Tabelle von Windisch, aus der der zugehörige Alkoholgehalt abgelesen wurde, ist auf dieses nichtreduzierte spezifische Gewicht berechnet.

Versuch III. Saft aus Trockenhefe Nr. 2.

A. Unvergorener Saft: 90 ccm; CO_2-Best.: 0,03 g CO_2.

B. Gärversuch: 90 ccm Hefesaft + 10 ccm H_2O + 36 g Glukose + 1 ccm Toluol. 25°. 4 Tage.

a) CO_2-Best.: 6,34 g — 0,03 = 6,31 g CO_2.

b) Alkoholbest.: Verluste bei der Destillation.

Versuch IV. Saft aus Trockenhefe Nr. 3.

A. Unvergorener Saft: 100 ccm.

a) CO_2-Best.: 0,03 g CO_2 auf 100; 0,027 = 0,03 g auf 90 ccm.

b) Alkoholbest.: 100 ccm Hefesaft. 2. Destillat: 38,823 g vom spezifischen Gewicht s′ = 0,99910; also 0,48 % = 0,19 g Alkohol auf 100 ccm Hefesaft = 0,17 g Alkohol auf 90 ccm.

B. Gärversuch: 90 ccm Hefesaft + 10 ccm H_2O + 36 g Glukose + 1 ccm Toluol. 25°. 4 Tage.

a) CO_2-Best.: 8,99 g — 0,03 g = 8,96 g CO_2.

b) Alkoholbest.: Verluste.

Versuch V. Saft aus Trockenhefe Nr. 3.

A. Unvergorener Saft: Alkoholbest.: 90 ccm. 2. Destillat: 59,169 g vom spezifischen Gewicht s′ = 0,99956; also 0,23 % = 0,14 g Alkohol.

B. Gärversuch: 90 ccm Hefesaft + 10 ccm H_2O + 36 g Glukose + 1 ccm Toluol. 25°. 4 Tage.

a) CO_2-Best.: 9,59 g — 0,03 g = 9,56 g CO_2.

b) Alkoholbest.: 4. Destillat: 88,532 g; spezifisches Gewicht s′ = 0,98335; also 10,44 % Alkohol = 9,24 g. Davon abzuziehen 0,16 g (Mittel aus Versuch 4 und 5), die im Hefesaft vorhanden waren, bleibt: 9,08 Alkohol.

$$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2} = 0{,}95$$

Versuch VI. Saft aus Trockenhefe Nr. 3.

A. Unvergorener Saft.

B. Gärversuch: 90 ccm Hefesaft + 10 ccm H_2O + 36 g Glukose + 1 ccm Toluol. 25°. 4 Tage.

a) CO_2-Best.: 9,38 g — 0,03 g = 9,35 g CO_2.

b) Alkoholbest.: 4. Destillat: 58,215 g; spezifisches Gewicht s′ = 0,977175; also 15,42 % Alkohol = 8,98 g. Abzuziehen 0,16 g, bleibt 8,82 g Alkohol.

$$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2} = 0{,}94$$

Aus den beiden letzten Versuchen (V und VI) geht hervor, daß der Gärungsquotient $\frac{\text{Alkohol}}{CO_2}$ erheblich hinter dem zurückbleibt, der der Gärungsgleichung entsprechen würde (1,04). Da jedoch der unbekannte Einfluß konstant zu sein schien, wurde er vorläufig nicht beachtet und die nächsten beiden Versuche unter Zusatz von TeO_2 bezw. Tellursäure ausgeführt.

Versuch VII. Saft aus Trockenhefe Nr. 3.

A. Unvergorener Saft.

B. Gärversuch: 90 ccm Hefesaft + 10 ccm H_2O + 1,595 TeO_2 + 36 g Glukose + 1 ccm Toluol. 25°. 4 Tage.

a) CO_2-Best.: 9,98 g — 0,03 g = 9,95 g CO_2.

b) Alkoholbest.: 4. Destillat: 46,513 g; spezifisches Gewicht s' = 0,971075, also 20,46 % = 9,52 g. Abzuziehen 0,16 g, bleibt 9,36 g Alkohol.

$$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2} = 0{,}94$$

Durch Zusatz von TeO_2 war also keine Änderung des Gärungsquotienten bewirkt worden.

Versuch VIII. Saft aus Trockenhefe Nr. 4.

A. Unvergorener Saft. 90 ccm Hefesaft.

a) CO_2-Best.: 0,03 g CO_2.

b) Alkoholbest.: 2. Destillat: 30,318 g; spezifisches Gewicht s' = 0,99914, also 0,46 % = 0,14 g Alkohol.

B. Gärversuch: 90 ccm Hefesaft + 10 ccm H_2O + 36 g Glukose + 2,295 g Tellursäure + 1 ccm Toluol. 25°. 4 Tage.

a) CO_2-Best.: 3,55 g — 0,03 g = 3,52 g CO_2.

b) Alkoholbest.: 4. Destillat: 71,525 g; spezifisches Gewicht s' = 0,992175, also 4,505 % = 3,15 g Alkohol, davon abzuziehen 0,16 g, bleiben 2,99 g Alkohol.

$$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2} = 0{,}85$$

Bei diesem Versuch mit Tellursäure erscheint in der Tat der Quotient erheblich verschoben. Die Alkoholbildung war viel geringer, als man nach den früheren Versuchen (V, VI und VII) erwarten konnte. Es wäre jedoch nicht richtig, bei den geringen absoluten Mengen weitergehende Schlüsse zu ziehen, umsoweniger, als bei dem I. Versuch, wo die Gärung auch geringer war, der Gärungsquotient in dem gleichen Sinne verschoben erscheint. Dies deutet vielleicht darauf hin, daß in den Anfangsstadien der Gärung mehr CO_2 gebildet wird, als Alkohol, und daß allmählich mit der Vervollständigung der Zuckervergärung das Verhältnis sich dem theoretischen Wert nähert. Daraus wurde weiter gefolgert, daß bei einer vollständigeren Vergärung des zugesetzten Zuckers eine Annäherung des Gärungsquotienten an den theoretischen Wert zu erwarten sei. Bisher waren im günstigsten Falle (Versuch VIII) 19,3 g Glukose in CO_2 und Alkohol umgesetzt worden; bei anderen Versuchen betrug die Summe von Alkohol und CO_2 auch über 18 g. Bei einem Zusatz von 18 g Glukose hätte also die Vergärung annähernd eine vollständige sein sollen. Unter diesen Erwägungen wurde folgender Versuch angesetzt:

Versuch IX. Saft aus Trockenhefe Nr. 4.

A. Unvergorener Saft.

B. Gärversuch: 90 ccm Hefesaft + 10 ccm H_2O + 18 g Glukose + 1 ccm Toluol. 25°. 3 Tage (weil die CO_2-Entwicklung schon bald beendet war).

a) CO_2-Best.: 4,71 — 0,03 = 4,68 g CO_2.

b) Alkoholbest.: 4. Destillat: 61,146 g vom spez. Gew. s' = 0,988025 = 7,06 % = 4,49 g. Davon ab: 0,14. Bleibt 4,35 g Alkohol.

$$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2} = 0{,}93$$

Auch hier war wieder nur ca. die Hälfte der zugesetzten Glukose vergoren. Gleichzeitig angesetzte Versuche zur Bestimmung der CO_2-Entwicklung ergaben, daß die zur Saftbereitung verwendete Trockenhefe 4 einen geringeren Gärwert aufwies, als die frühere. Dazu kommt noch ein Weiteres: Bei den obigen Überlegungen war nicht berücksichtigt worden, daß der Zucker, wie von Buchner gezeigt worden ist, eine konservierende Wirkung auf die Zymase gegenüber dem proteolytischen Enzym ausübt, daß also eine Glukosemenge, die bei Anwesenheit von viel Zucker vergoren wird, dann, wenn sie allein vorhanden ist, nicht mehr vollständig vergoren zu werden braucht.

Die auf die Klärung dieser Frage gerichteten Versuche konnten wegen der Untauglichkeit der bezogenen Trockenhefen erst lange Zeit später wieder aufgenommen werden. Um rascher zum Ziele zu kommen, wurde die geeignete Zuckerkonzentration (d. h. die, welche bei vollständiger Vergärung eine möglichst große Menge Gärprodukte liefert) durch einfache CO_2-Bestimmungen festgestellt.

9 ccm Hefesaft (aus Trockenhefe Nr. 7) + 1 ccm H_2O + 0,1 Tol. 25°

	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
+ 3,6 g Glukose	0,803 g CO_2	0,854 g CO_2
1,8 g Glukose	0,711 g CO_2	0,741 g CO_2
0,9 g Glukose	0,385 g CO_2	0,386 g CO_2

Also selbst bei Zusatz von nur 0,9 g Glukose war keine vollständige Vergärung des Zuckers eingetreten, obwohl bei stärkeren Konzentrationen an Zucker mehr als die doppelte Menge vergoren wurde.

Von der Überlegung ausgehend, daß ein stärker konzentrierter Saft vielleicht diese Schutzwirkung nicht in solchem Maße nötig habe, wurde die Saftbereitung nunmehr unter Zusatz von 2,5 Teilen H_2O (früher 3 Teilen) ausgeführt. Mit diesem Safte wurde folgendes Resultat erhalten:

9 ccm Hefesaft + 1 ccm H_2O + 0,1 Toluol

	nach ca. 3 Tagen	nach ca. 5 Tagen
+ 3,6 g Glukose	0,933 g CO_2	1,001 g CO_2
1,8 g Glukose	0,758 g CO_2	0,788 g CO_2
0,9 g Glukose	0,411 g CO_2	0,421 g CO_2

Berücksichtigt man, daß im Gasraum noch CO_2 verblieben war (bei der Anordnung dieser Versuche konnte diese Menge nicht bestimmt werden) und daß von Buchner für einen Kolben von 100 ccm durchgängig, unabhängig von der absoluten Menge, der im Gasraum verbliebene Teil zu 0,10—0,12 g CO_2 gefunden wurde, woraus sich für einen Kolben von 50 ccm 0,05—0,06 g ergeben würde, so sieht man deutlich, daß bei 1,8 g Glukose die Vergärung annähernd und bei 0,9 g Glukose ganz vollständig gewesen ist.

Es war zu erwarten, daß eine dazwischenliegende Glukosemenge, also etwa 1,35 g ebenfalls vollständig vergoren werden würde. Um sicher zu gehen, wurde bei den folgenden Versuchen der Hefesaft noch konzentrierter angewendet, indem er nicht durch Zusatz von H_2O verdünnt wurde.

Versuch X. Saft aus Trockenhefe Nr. 7.

A. Unvergorener Saft: 135 ccm.
   a) CO_2-Best.: 0,05 g CO_2 auf 135 ccm = 0,04 g auf 100 ccm.
   b) Alkoholbest.: 2. Dest. 33,377 g vom spez. Gew. s' = 0,99540; also 0,834 g auf 135 ccm = 0,62 g Alkohol auf 100 ccm.

B. Gärversuch: 100 ccm Hefesaft + 1 ccm Toluol + 13,5 g Glukose. 25° ca. $2^1/_2$ Tage (3870 Min.).
   a) CO_2-Best.: 6,49 g — 0,04 g = 6,45 g CO_2
   b) Alkoholbest.: 3. Dest. 44,167 g vom spez. Gew. s' = 0,97702, also 15,52 % = 6,87 g, davon ab 0,62 g. Bleibt: 6,25 g Alkohol.

$$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2} = \mathbf{0{,}97}$$

Aus der CO_2-Produktion zu schließen, hätte die Vergärung annähernd vollständig sein sollen (aus 13,5 g Glukose 6,60 g CO_2). Aber trotzdem bleibt der Alkohol erheblich zurück. Der Gärungsquotient ist immer noch beträchtlich geringer als der theoretische Wert, allerdings ihm, gegenüber den früheren Versuchen, etwas näher gerückt, ein Beweis, daß die oben angeführte Vermutung richtig war. Es scheint überhaupt eine Eigenschaft des Hefesaftes zu sein, daß die Gärungsquotienten bei ihm geringer und mehr Schwankungen unterworfen sind, als bei lebender Hefe. Wenn man die wenigen Alkohol- und CO_2-Bestimmungen, die

bisher bei Hefesaftgärung ausgeführt worden sind, daraufhin ansieht, findet man dies bestätigt.

Buchner[1]) berechnet aus seinen ersten Versuchen folgende Werte:

$$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2} = 1,00; = 0,99; = 101; = 0,99.$$

Bei späteren Versuchen[2]) findet er für die Quotienten die Werte: 1,08; 0,98 und 0,90 und schreibt die Ursache der verringerten Alkoholbildung der Entstehung größerer Mengen von Glyzerin zu, die bei einigen Hefesaftgärungen auch beobachtet worden sei.

Man mußte sich also mit der Tatsache abfinden, daß bei der zellfreien Gärung die Menge der Endprodukte des Zuckerzerfalls nicht der idealen Gärungsgleichung entsprechen. Aber sicherlich war zu erwarten, daß man mit Hefesaft, der aus der gleichen Trockenhefe unter den gleichen Bedingungen hergestellt war, annähernd dasselbe Resultat erhalten konnte. Die Versuche V, VI und VII können dies nur bestätigen; die Schwankungen des Gärungsquotienten sind sehr minimal. Wenn also hier bei Zusatz eines reduzierbaren Stoffes eine merkliche Verschiebung des Gärungsquotienten eintreten würde, so könnte man dies ohne Bedenken im Sinne der Grüßschen Hypothese deuten. Voraussetzung dabei ist, daß die Vergärung des Zuckers gleichmäßig und annähernd vollständig ist, also die CO_2-Entwicklung ungefähr den gleichen Wert hat. Aus diesem Grunde wurde zu dem nächsten Versuch ein Stoff gewählt, der infolge seiner geringen Löslichkeit keine zu starke Hemmung auf die Gärung ausübt, nämlich Schwefel. Ein besonderer Anlaß für die Wahl dieses Stoffes war außerdem dadurch gegeben, daß die Grüßsche Hypothese auf Versuche mit Schwefel aufgebaut ist.

Bei der Zugabe von S zum Hefesaft liegen zunächst dieselben Verhältnisse vor, wie beim TeO_2. Der Schwefel ist nur wenig löslich und wird schnell reduziert zu H_2S, so daß eine neue Menge S sich lösen kann. Im Gegensatz zum TeO_2 setzt sich aber hier das Reduktionsprodukt nicht auf dem Ungelösten ab, sondern bleibt im Hefesaft gelöst, bis es bei genügender Konzentration entweicht. Das vom Hefesaft entwickelte Gas war also ein Gemisch von CO_2 und H_2S. Dieser Tatsache mußte durch eine zweckmäßige Änderung der Versuchsanordnung Rechnung getragen werden, worauf schon oben hingewiesen ist.

---

[1]) Buchner und Hahn, Zymasegärung. S. 210—211. (Versuch 2—5).

[2]) Buchner u. Meisenheimer, Über die Rolle der Milchsäure bei der alkohol. Gärung des Zuckers. Landwirtschaftl. Jahrbücher **38**, Erg. Bd. **5**, S. 276.

Für die quantitative Bestimmung von H_2S und CO_2 in einem Gemisch dieser Gase ist von Fresenius eine einfache Methode angegeben worden.[1])

Mit den nach Vorschrift bereiteten $CuSO_4$-Bimssteinstücken wurde Teil *D* des Gärapparates derart beschickt, daß die Bimssteinstücke nach beiden Seiten von einer dünnen Schicht $CaCl_2$ eingeschlossen waren, um jegliche Diffusion von H_2O-Dampf zu verhindern. Durch diese Anordnung war nicht nur erreicht, daß die CO_2 vom H_2S gereinigt wurde, sondern zugleich eine Bestimmung des Reduktionsproduktes ermöglicht, indem Teil *D* vor und nach dem Versuch gewogen wurde.

Um die H_2S-Bestimmung auch wirklich quantitativ zu machen, mußte noch der Umstand berücksichtigt werden, daß die Gärflüssigkeit, um die CO_2 auszutreiben, am Schluß des Versuchs längere Zeit auf höhere Temperatur gebracht werden muß. Für die H_2S-Bestimmung erschien dies deshalb bedenklich, weil S schon beim Erhitzen mit reinem Wasser eine merkliche Entwicklung von H_2S zeigt, wie aus den Versuchen von Geitner[2]), Böhm[3]), Cross und Higgin[4]) hervorgeht und wie auch tatsächlich beobachtet wurde. Es wäre nicht undenkbar, daß diese Bildung von H_2S durch das Vorhandensein von Eiweißverbindungen noch verstärkt würde. Um die Bildung oder wenigstens das Entweichen dieses H_2S zu verhindern, wurden am Schluß des Versuchs, nachdem schon längere Zeit Luft durchgeleitet war, vor dem Erhitzen, ca. 5 ccm einer gesättigten $CdSO_4$-Lösung durch den Ansatz in den Gärkolben hineingegeben. Das Resultat des Versuchs ergibt sich in folgendem:

Versuch XI. Hefesaft aus Trockenhefe Nr. 7.

A. Unvergorener Hefesaft: 110 ccm. Alkoholbestimmung: 3. Dest. 28,453 ccm vom spez. Gew. $s' = 0{,}99538 = 2{,}51\,\% = 0{,}714$ g auf 110 ccm $= 0{,}65$ g auf 100.

B. Gärversuch: 100 ccm Hefesaft + 1 ccm Toluol + 13,5 g Glukose + 3 g Schwefel, 25°. 2 ½ Tage.

a) CO_2-Best.: 6,52 g — 0,04 g = 6,48 g CO_2.

b) Alkoholbest.: 4. Dest. 41,280 ccm vom spez. Gew. $s' = 0{,}97548$; $16{,}84\,\% = 6{,}95$ g. Davon ab: 0,65 g; bleibt: 6,30 g Alkohol.

$$\frac{\text{Alkohol}}{CO_2} = \mathbf{0{,}97}$$

c) H_2S-Best.: 0,015 g H_2S. Hierzu kommt noch eine geringe Menge S, die sich in dem H_2SO_4-Verschluß ausgeschieden hatte.

---

[1]) Zeitschrift für analytische Chemie **10**, 1871, S. 75.

[2]) Geitner, Annal. d. Chem. **129**, 1864, S. 350.

[3]) Boehm, Monatsh. f. Chemie. **3**, 1882, S. 224.

[4]) Cross und Higgin, Ber. d. Chem. Ges. **16**, 1883, S. 1195. Wie dieser Vorgang zustande kommt, ist wohl nicht erwiesen. Er geht auch bei gewöhnlicher Temperatur

Der Gärungsquotient ist also der gleiche, wie beim vorherigen Versuch, genau berechnet sogar noch um ein wenig höher (0,972 gegen 0,969)[1]. Ein Eingreifen des Schwefels in den Gärungsprozeß, das im Sinne der Grüßschen Theorie eine Verringerung des Gärungsquotienten zur Folge haben sollte, hatte also nicht stattgefunden. Der Augenschein lehrte auch, daß der S zum größten Teil auf der während der Gärung gebildeten Schaumschicht sich abgesetzt hatte und somit gar nicht in Reaktion treten konnte. Die geringe Bildung von H_2S bestätigt dies. Der Schwefel ist eben, weil er vom Hefesaft nur schwer benetzt wird, tatsächlich ein höchst ungeeignetes Material für diese Versuche. Es wurde deshalb bei gleicher Anordnung noch ein Versuch mit einer löslichen S-Verbindung, Na-Thiosulfat ausgeführt. Nur wurde dabei, um eine Zersetzung des H_2S zu vermeiden, die H_2SO_4 weggelassen und dieser Verschluß mit $CaCl_2$-Stücken angefüllt. Für die Menge des Thiosulfats wurde eine Konzentration gewählt, von der man erwarten konnte, daß sie nicht allzu stark gärungshemmend wirkte und die andererseits noch groß genug war, um genügende Mengen von H_2S zu liefern: 0,05 molar.

Versuch XII. Hefesaft aus Trockenhefe Nr. 7.

A. Unvergorener Saft.

B. Gärversuch: 100 ccm Hefesaft + 1 ccm Toluol + 13,5 g Glukose + 1,241 g $Na_2S_2O_3 \cdot 5\,H_2O$. 25°. 2 1/2 Tage.

a) CO_2-Best.: 5,03 g — 0,04 g = 4,99 g CO_2.

b) Alkoholbestimmung: 4. Dest. 43,186 g; spez. Gew. s' = 0,98090; 12,36 % = 5,34 g. Davon ab: 0,64 (Mittel aus X und XI): bleibt: 4,70 g Alkohol.

$$\frac{\text{Alhohol}}{CO_2} = \mathbf{0{,}94}$$

C. H_2S-Bestimmung: 0,008 g H_2S.

Der Gärungsquotient ist allerdings in diesem Falle erniedrigt worden; doch ist zu bedenken, daß auch der Gärwert durch den Zusatz des Thiosulfates eine Erniedrigung erlitten hat. Dies entspricht der schon oben gemachten Erfahrung, daß die Bildung von Alkohol umsomehr hinter der CO_2-Produktion zurückbleibt, je unvollständiger die Vergärung des Zuckers ist. Bei der geringen

---

vor sich (Böhm) und wird durch Temperatur-Erhöhung nur beschleunigt. Eine Erklärung wäre dadurch gegeben, daß der im Wasser gelöste S mit den Ionen des Wassers in Reaktion tritt, etwa nach folgender Gleichung:

$$3\,S + 2\,H_2O = 2\,SH_2 + SO_2.$$

Dies würde dann an Wahrscheinlichkeit gewinnen, wenn das Auftreten von SO_2 beobachtet würde.

[1]) Vers. X u. XI beweisen, daß die Versuchsfehler nur sehr gering sein können.

Menge von H_2S ist es ja auch nicht gut denkbar, daß das Thiosulfat jene Veränderung des Gärungsquotienten hervorgebracht hat. Letztere Überlegung gab den Anlaß, von weiteren Versuchen dieser Art abzusehen, zumal da unterdessen durch die quantitativen Bestimmungen des Te (siehe nächsten Abschn.) ein weiterer Einblick in die Reduktionsvorgänge gewonnen war.

Bevor jedoch auf diese Versuche eingegangen werden soll, sollen an der Hand einer übersichtlichen Zusammenstellung der vollständig durchgeführten CO_2-Alkoholbestimmungen noch einige Erörterungen angeknüpft werden.

Tabelle 15.

CO_2- und Alkoholbestimmungen. 25°.

Trockenhefe	Vers.	Zusammensetzung der Gärflüssigkeit					Gärungsprodukte		Alk./CO_2	CO_2 berechnet aus Alkohol	**Diff.** gef. CO_2 ber. CO_2
		Hefesaft	H_2O	Toluol	Glukose	Zusatz	CO_2	Alkohol			
Nr.	Nr.	ccm	ccm	ccm	g		g	g			
2	II	90	10	1	36	—	5,65	5,26	**0,93**	5,03	**0,62**
3	V	90	10	1	36	—	9,56	9,08	**0,95**	8,69	**0,87**
3	VI	90	10	1	36	—	9,35	8,82	**0,94**	8,44	**0,91**
3	VII	90	10	1	36	1,595 g TeO_2	9,95	9,36	**0,94**	8,95	**1,00**
4	VIII	90	10	1	36	2,295 g H_6TeO_6	3,52	2,99	**0,85**	2,86	**0,66**
4	IX	90	10	1	18	—	4,68	4,16	**0,88**	3,98	**0,70**
7	X	100	—	1	13,5	—	6,45	6,25	**0,97**	5,98	**0,47**
7	XI	100	—	1	13,5	3 g S	6,48	6,30	**0,97**	6,03	**0,45**
7	XII	100	—	1	13,5	1,241 g $Na_2S_2O_3$	4,99	4,70	**0,94**	4,50	**0,49**

Die Tabelle zeigt deutlich, daß TeO_2 und S keine Änderung des Gärungsquotienten im Sinne der Grüßschen und Kostytschewschen Theorien, hervorgebracht haben. Es ist ferner von Interesse, zu wissen, wodurch die schon mehrfach erwähnte Verkleinerung des Gärungsquotienten bei unvollständiger Vergärung des Zuckers bewirkt wird. Rechnet man einmal, wie es in der letzten Kolumne der Tabelle geschehen ist, die Differenzen zwischen der direkt gefundenen CO_2-Menge aus und derjenigen, die man aus den Alkoholwerten berechnen kann, so erhält man ein überraschendes Resultat. Bei den Versuchen, die mit Hefesaft aus der gleichen Trockenhefe angestellt wurden, ist die Differenz ungefähr die gleiche, und zwar bei Trockenhefe Nr. 3: 0,87, 0,91, 1,00, bei Trockenhefe Nr. 4: 0,66, 0,70 und bei Trockenhefe Nr. 7: 0,47, 0,45 und 0,49. Dabei ist die Differenz, wie Versuch XII

zeigt, unabhängig von den absoluten Mengen. Wäre die Differenz in allen Fällen gleich, so läge es nahe, eine Einwirkung des im Gasraum vorhandenen Sauerstoffs anzunehmen, der auf Kosten der Entstehung von Alkohol die Bildung von CO_2 oder Glyzerin vermehren könnte. Aber dies ist nicht der Fall. Zudem wäre auch die Menge des in dem Luftraum des $^3/_4$ l-Kolbens enthaltenen Sauerstoffs viel zu gering, um derartige Wirkungen hervorzubringen. Zum mindesten kann also der Sauerstoff des Luftraumes nicht der einzige Grund sein. Die Differenz wechselt, wie gesagt, mit der Trockenhefe, die zur Herstellung des Saftes Verwendung fand; sie scheint in den Eigenschaften der Hefe begründet zu sein. Hierfür bieten sich zwei Erklärungsmöglichkeiten. Einmal wäre es denkbar, daß die lebende Hefe mit Hilfe der Oxygenase Sauerstoff aufgenommen und gebunden hat. Je nachdem nun die Sauerstoffaufnahme vor der Abtötung größer oder geringer war, ist der Gehalt der dargestellten Trockenhefe an gebundenem und verwertbarem Sauerstoff verschieden; der Gärungsquotient wäre um so geringer, je mehr Sauerstoff die Hefe im Moment der Abtötung gerade enthielt.

Andererseits wäre es auch nicht unmöglich, daß der Saft bei der Herstellung Sauerstoff aufnehmen und aktivieren könnte. Gestützt wird diese Annahme durch die Beobachtung de Rey-Pailhades[1]), daß durch eine „Philothion“haltige Flüssigkeit aus der Luft Sauerstoff absorbiert wird, allerdings erst im Verlauf von Tagen. In Anbetracht der feinen Verteilung des Hefesaftes bei der Filtration und der dadurch bedingten innigen Berührung mit dem Luftsauerstoff ist ein analoges Verhalten nicht unwahrscheinlich. Schließlich könnten auch alle genannten Erscheinungen zusammenwirken.

4. Quantitative Bestimmung des Reduktionsproduktes.

Eine Ergänzung zu diesen Versuchen bot sich in der quantitativen Bestimmung des Reduktionsproduktes.

Frühere Bestimmungen: Quantitative Bestimmungen des Reduktionswertes sind nur sehr wenig ausgeführt worden; sie sind vereinzelt und gestatten keine Vergleiche. Auch fehlen die wichtigen Angaben darüber, wie stark die Gärung dabei gewesen ist, bezw. ob solche überhaupt stattgefunden hat.

So fand Grüß[2]) bei lebender Hefe, daß durch 5 g derselben in 20% Glukoselösung eine H_2S-Menge entwickelt wird, die in $CdSO_4$

---

[1]) De Rey-Pailhade, Bull. soc. chim. Ser. III. T. **3**, 1890, p. 171.
[2]) a. a. O.

eingeleitet, 0,1676 g CdS ergibt; bei Zusatz von NaCl wird die Gärung gehemmt bezw. aufgehoben und auch weniger CdS gebildet. Eine Angabe über die Menge der Gärprodukte findet sich nicht. Ebensowenig hat Chowrenko[1]) die Gärung bei seinen Versuchen bestimmt. Er arbeitete mit lebender Hefe und Zymin und fand, daß mit Erhöhung des Zuckergehaltes die Menge des entwickelten H_2S sich vergrößert, ferner, daß bei lebender Hefe die Hauptmenge des H_2S erst nach der 5—6 Tage dauernden Hauptgärung gebildet wird und daß in der Quantität des gebildeten H_2S ein beträchtlicher Unterschied zwischen der lebenden Hefe und dem Zymin sich bemerkbar macht. Bei lebender Hefe und Zusatz von Glukose wurden nun allerdings nach 28tägiger Dauer Mengen bis zu 0,1390 g H_2S gebildet. Aber da eben die stattgehabte Gärung nicht bestimmt, auch über die Menge und das Wachstum der Hefe nichts mitgeteilt wurde, läßt sich für das vorliegende Problem mit diesen Resultaten nichts anfangen. Annähernd bestimmte Hahn[2]) das Reduktionsprodukt, indem er bei seinen Reduktionsdauerversuchen beobachtete, daß noch 0,14 g Methylenblau durch 10 ccm Hefepreßsaft entfärbt werden. Die Menge der Gärungsprodukte wurde auch hier nicht festgestellt.

Allgemeine Erörterung. Für die von mir in Aussicht genommenen Versuche waren nun folgende Gesichtspunkte maßgebend:

1. Mußte der reduzierbare Stoff durch den Hefesaft leicht und in größeren Mengen reduziert werden;
2. Durfte er sowohl, als auch das Reduktionsprodukt die allgemeinen Eigenschaften des Hefesaftes, insbesondere die Gärkraft, nicht allzusehr schädigen;
3. Mußte das Reduktionsprodukt in exakter Weise vom Hefesaft abtrennbar und bestimmbar,
4. der reduzierbare Stoff, damit eine gleichmäßige Wirkung ermöglicht ist, leicht im Hefesaft löslich oder mit ihm mischbar sein.

In dieser Weise betrachtet, ergibt sich für die einzelnen Stoffe folgendes:

Schwefel ist zwar leicht reduzierbar, jedoch deshalb ungeeignet, weil er meist auf dem Hefesaft schwimmt und nicht benetzt wird. $Na_2S_2O_3$ wird ebenfalls leicht reduziert, übt jedoch einen sehr ungünstigen Einfluß auf die Gärung aus (Hemmungswert 30 % bei 0,1 mol. Lösung. Das Reduktionsprodukt — H_2S — ist gut abtrennbar und leicht zu bestimmen.

---

[1]) Z. f. physiol. Chemie **80**, 1912, S. 253ff.

[2]) a. a. O., S. 344.

Methylenblau ist sehr leicht reduzierbar, wirkt aber ebenfalls stark gärungshemmend (Hemmungswert 26 % bei 0,1 mol Lösung). Das Reduktionsprodukt ist zu leicht reoxydierbar, als daß es bestimmbar wäre. Hier kämen lediglich indirekte Methoden in Betracht, indem man entweder Versuchsreihen mit verschiedenen Mengen Methylenblau ansetzt und beobachtet, bei welcher Methylenblaumenge noch vollständige Entfärbung eintritt, oder indem man Methylenblau im Überschuß zusetzt und den nicht reduzierten Anteil titrimetrisch mit $TiCl_3$ bestimmt. Diese Art der Bestimmung wurde von Wichern[1]) für Bakterien und tierische Organe bearbeitet. Sie dürfte auch für den Hefesaft ohne weiteres anwendbar sein.

Indigkarmin wird nicht so leicht reduziert, es wird wie Methylenblau zu bestimmen sein, wirkt aber so stark gärungshemmend, daß an seine Verwendung hier nicht gedacht werden kann.

Der letzte Punkt trifft auch für die selenige Säure und die Selenite zu, die in verdünnter Lösung ja leicht reduzierbar sind und deren Reduktionsprodukt leicht abtrennbar wäre, deren gärungshemmende Wirkung aber so stark ist, daß bei 0,1 molarer Konzentration überhaupt keine Gärung mehr statthat.

Tellurdioxyd ist infolge der eingangs näher geschilderten Verhältnisse auch hier nicht brauchbar. Dagegen scheinen für die Tellursäure alle Bedingungen zuzutreffen. Sie ist leicht löslich und wird rasch und leicht reduziert, indem sich der Saft durch das feinverteilte Tellur schwarz färbt, letzteres setzt sich mit der Zeit zu Boden und ist leicht abtrennbar. Im Verhältnis zu den anderen reduzierten Stoffen wirkt sie nur wenig gärungshemmend (in 0,1 mol Konzentration bleiben 59 % der N. G. erhalten). Aus diesem Grunde wurden eingehendere Versuche mit der Tellursäure ausgeführt.

a) Tellur.

Bisher wurde die Tellursäure weder qualitativ noch quantitativ zum Nachweis von Reduktionserscheinungen des Hefesaftes benutzt.

Rein qualitativ betrachtet, ergab sich schon bei vorläufigen Versuchen, daß die Reduktion umso schneller eintritt, je mehr Tellursäure zugesetzt wurde. Es tritt zunächst eine schwache Dunkelfärbung auf, die allmählich immer intensiver und zuletzt tiefschwarz wird.

---

[1]) H. Wichern, Zur quantitativen Bestimmung der Reduktionskraft von Bakterien und tierischen Organen. Z. f. physiol. Chemie **57**, S. 365 ff.

Durch Erhitzen des Hefesaftes während 10 Minuten auf 70° geht das Reduktionsvermögen des Hefesaftes auf Tellursäure nicht verloren, wohl aber, wenn der Hefesaft in dünnem Strahl in siedendes Wasser eingespritzt wird, also Erhitzen auf 100° stattfindet.

Zu den ersten Versuchen, das durch den Hefesaft reduzierte Tellur quantitativ zu bestimmen, wurden schon die bei den CO_2-Bestimmungen mit Tellursäure resultierenden Flüssigkeiten benutzt. Jedoch scheiterte die Durchführung an der noch mangelhaften Methodik. Das gleiche Schicksal wurde auch einigen weiteren Versuchsreihen zuteil. Erst nachdem jedes einzelne Stadium der Bestimmung sorgfältig durchgeprüft war, konnte eine gute und sichere Feststellung der vorhandenen Te-Mengen gewährleistet werden[1]). Soviel aber ging aus diesen Versuchen hervor, daß die Te-Mengen im Verhältnis zur CO_2 außerordentlich kleine waren und daß, je mehr Tellursäure zugesetzt wurde, umso größer auch die Menge des Reduktionsproduktes war. Es ist also auch die Konzentration der Tellursäure für die Reduktion maßgebend.

Das wichtigste Problem war, worauf schon mehrfach hingewiesen ist, zu wissen, wie das Reduktionsvermögen durch die Zuckervergärung beeinflußt wird. Es handelte sich also darum, Tellursäure in geeigneter Konzentration durch Hefesaft reduzieren zu lassen, und zwar sowohl ohne gleichzeitige Gärung, wie auch bei verschieden starker Gärtätigkeit.

Tabelle 16.

9 ccm Hefesaft + 1 ccm H_2O + 0,1147 g Tellurs. + 0,1 ccm Toluol.
Dauer: 4 Tage. 25°.

Versuch Nr.	Glukose	CO_2 g	% des N. V. (Hemmungswert)	Te mg
119	1,8	0,378	71	4,9
121	0,9	0,328	83	4,6
123	0,45	0,184	99	3,7
124	0,0	0,009	—	1,8

Da also gleichzeitig die CO_2-Entwicklung gemessen werden sollte, wurden die Versuche genau wie die oben im Teil B 2 näher geschilderten ausgeführt. Als Tellursäurekonzentration wurde 1/20 molar gewählt, da diese Menge die Gärung schätzungsweise um nur 25%

[1]) Siehe Anhang.

deprimieren konnte. Verschieden starke Gärtätigkeit wurde hervorgerufen durch wechselnde Mengen Glukose. Gleichzeitig wurde für jede Zuckerkonzentration ein N-Versuch angesetzt, um den Einfluß der Tellursäure zu kontrollieren; die Daten für diesen Einfluß sind wegen ihrer Zugehörigkeit zum 2. Teil bereits erwähnt worden. Die Versuche wurden nach 4 Tagen abgebrochen und die Bestimmung des ausgeschiedenen Tellurs hatte das in Tabelle 16 wiedergegebene Ergebnis.

Es zeigt sich also, daß auch ohne merkliche Gärung eine gewisse Menge Te ausgeschieden wird, daß bei der Vergärung von Glukose diese Menge sich aber verdoppelt und fast verdreifacht. Je stärker die Gärung, umso stärker auch die Reduktion des Tellurs; diese Tendenz ist klar zu erkennen. Da bei dieser Versuchsreihe die Gärung infolge der geringen Wirksamkeit des Saftes nicht sehr bedeutend war, wurde eine zweite unter dem gleichen Gesichtspunkt angesetzt, deren Resultate Tabelle 17 wiedergibt:

Tabelle 17.

9 ccm Hefesaft + 1 ccm H_2O + 0,1147 g Tellurs. + 0,1 ccm Toluol.
Dauer: 6 Tage. 25°.

Versuch Nr.	Glukose	CO_2 g	% d. N.-V.	Te mg
135	+ 3,6	0,708	71	11,9
137	1,8	0,582	74	9,8
139	0,9	0,398	95	6,8
141	0,45	0,201	—[1]	5,7
142	0,00	0,012	—	4,8

Auch hier zeigt sich, daß einerseits der Saft ohne Zucker bei nur geringer CO_2-Entwicklung (Glykogenvergärung) eine gewisse Menge Tellursäure reduzieren kann, andererseits auch die Stärke der Zuckergärung einen unverkennbaren Einfluß auf die Menge des Reduktionsproduktes hat. Weitere Gesetzmäßigkeiten, etwa Beziehungen zwischen der CO_2- und Te-Menge können nicht herausgefunden werden. Eine einfache Proportionalität läßt sich nicht aufstellen.

Obige Resultate stehen in offenbarem Gegensatz zu den — allerdings mehr qualitativen — Beobachtungen Palladins. Dieser arbeitete zwar mit der selenigen Säure; aber bei der nahen Verwandtschaft der Elemente Se und Te kann man die beiden Fälle wohl in eine gewisse Parallele setzen. Immerhin wäre es nicht unmöglich, daß ein unter-

[1]) CO_2 beim N.-V. nicht bestimmt.

schiedliches Verhalten vorliegt, zumal wenn man in Rücksicht zieht, daß in der gärungshemmenden Wirkung zwischen der selenigen Säure und der Tellursäure ein eminent großer Unterschied sich gezeigt hat.

Nun war bei qualitativen Vorversuchen mit Methylenblau gelegentlich die Beobachtung gemacht worden, daß bei Anwesenheit von Zucker dieReduktion einer bestimmten Menge Methylenblau längere Zeit braucht, als ohne Zucker, daß aber bei größeren Methylenblaumengen dies Verhältnis sich auszugleichen scheint. Diese Tatsachen gaben der Vermutung Platz, daß die Reduktion des Methylenblaus und der Tellursäure prinzipiell im gleichen Sinne erfolgt, sowohl was die absoluten Mengen als auch die Geschwindigkeit betrifft, und daß auch die selenige Säure dazu paßt, wenn man annehmen darf, daß Palladin seine Beobachtungen nicht allzulange nach dem Beginn des Versuchs gemacht hat. Es ergab sich zufolge dieser Betrachtungen die Forderung, durch eine zweckmäßige Versuchsreihe festzustellen, in welchem zeitlichen Verhältnis die Reduktion der Tellursäure erfolgt, bezw. in welchem Stadium der Gärung die maximale Reduktion stattfindet. Es handelte sich also kurz darum, eine Reihe gleichartiger Versuche mit und ohne Zucker bei gleichen Bedingungen gleichzeitig anzusetzen und nach verschieden langer Zeit abzubrechen. Tabelle 18 gibt die näheren Einzelheiten und zeigt das Resultat. Im übrigen war die Ausführung genau wie sonst.

Tabelle 18.

9 ccm Saft + 1 ccm H_2O + 0,1147 g Tellursäure + 0,1 ccm Toluol					
+ Glukose		3,6 g		0,0 g	
Versuch Nr.	Nach Min.	CO_2 mg	Te mg	CO_2 mg	Te mg
148	310	124	1,7	3	1,9
147	1060	414	4,5	3	2,7
146	3970	670	6,0	—	—
145	8710	679	9,6	3	4,1

Nach dem ersten Versuch könnte man meinen, daß auch hier, bei der Reduktion der Tellursäure durch Hefesaft, die Anwesenheit von Glukose eine verzögernde Rolle spielt. Es ist aber nicht zulässig, aus dem geringen absoluten Unterschied diesen Schluß zu ziehen, da die Versuchsfehler bis zu 0,4 mg angenommen werden müssen.

Aus obigen Versuchen läßt sich aber etwas Wichtigeres herauslesen: Ein allmählicher Fortgang der Reduktion findet sich

nicht nur bei Anwesenheit von Zucker, wo dies wegen der stattfindenden Gärung ja eher verständlich ist, sondern auch bei Abwesenheit eines vergärbaren Stoffes. Denn, aus der minimalen CO_2-Produktion zu schließen, war die vorhandene Glykogenmenge sehr gering. Trotzdem geht auch hier, ohne weitere CO_2-Entwicklung die Reduktion ruhig weiter; es ist nicht unwahrscheinlich, daß es sich um eine Begleitreaktion anderer, etwa proteolytischer, Prozesse handelt.

b) Schwefelwasserstoff.

Hierfür liegen nur jene beiden Bestimmungen vor, die gelegentlich der CO_2- und Alkoholbestimmungen ausgeführt wurden. Bei dem Versuch mit Schwefel (Versuch XI) waren 0,015 g SH_2 gefunden worden. Dabei war aber noch etwas SH_2 durch die H_2SO_4, die die Gase passieren mußten, unter Ausscheidung von S zersetzt worden. Nimmt man — hochgerechnet — an, daß es ebensoviel gewesen sei, so ergeben sich im ganzen 0,03 g SH_2 und zwar bei einem Gärwert von 6,48 g CO_2.

Beim Versuch mit Thiosulfat, bei dem die H_2SO_4 weggelassen war, wurden 0,008 g SH_2 gefunden, bei einem Gärwert von 4,99 g CO_2. Spezieller wurde das Verhalten des S und seiner Verbindungen zum Hefesaft aus den früher angeführten Gründen nicht untersucht.

c) Leukomethylenblau.

Die Bildung von Leukomethylenblau wurde durch annähernde Feststellung der Methylenblaumenge verfolgt, die durch den Hefesaft noch entfärbt wird. Die früher erwähnten CO_2-Bestimmungen ergaben zunächst beiläufig, daß ca. 0,04 Mol, also 0,1423 g, Methylenblau durch 10 ccm (9 ccm Hefesaft + 1 ccm H_2O) noch entfärbt werden, nicht mehr aber ca. 1/10 Mol = 0,3557 g Methylenblau. Um dem wahren Wert noch etwas näher zu kommen, wurden einige spezielle Versuche angesetzt mit und ohne Zucker und bei 0,04 bezw. 0,05 mol. Konzentration an Methylenblau, das sind 0,1423 bezw. 0,1779 g Methylenblau. Das Ergebnis war folgendes:

9 ccm Hefesaft + 1 ccm H_2O + 0,1 ccm Toluol

Glukose	Methylenblau	Entfärbung nach 6 Tagen
3,6 g	+ 0,1423 g	+
3,6	+ 0,1779 g	—
0	+ 0,1423 g	+
0	+ 0,1779 g	—

0,1779 g Methylenblau wurden also durch 10 ccm Hefesaft nicht mehr entfärbt; die Grenze liegt zwischen 0,142 g und 0,178 g, vermutlich nahe bei 0,142 g. Hahn hatte denselben Wert gefunden; die gleiche Hefemenge entfärbte noch 0,14 g Methylenblau[1]). Aus obigen Versuchen ergibt sich aber weiter die auffallende Tatsache, daß der ohne Zuckerzusatz wirkende Saft die gleiche Menge Methylenblau entfärbt, wie der gärende Saft[2]). Diese Tatsache gab die Anregung, den Einfluß der Zuckerkonzentration und damit verschieden starker Gärung auf die Reduktion von Methylenblau zu prüfen. Leider war der Gärwert des Saftes sehr gering.

Tabelle 19.

9 ccm Hefesaft + 1 ccm H_2O + 0,1 ccm Toluol.

Versuch Nr.	Glukose	Methylenblau	CO_2 g	Entfärbung nach 5 Tagen
102	3,6	0,1423	0,323	+ (schwach grünlich)
103	3,6	0,1779	0,295	—
105	1,8	0,1423	0,287	+ (schwach grünlich)
106	1,8	0,1779	0,252	—
108	0,9	0,1423	0,266	+ (vollständ. entfärbt)
109	0,9	0,1779	0,226	—

Hier macht sich also der Einfluß der Gärung auf die Reduktion gar nicht geltend, während er bei der Tellursäure in geringem Maße vorgefunden wurde. Die Reduktion des Methylenblaus scheint ziemlich unabhängig von der Stärke des Zuckerzusatzes (auf die Reduktionsdauer einer best. Menge übt Zucker einen verlängernden Einfluß aus) und von dem Gärwert zu sein. Auf diesen Punkt wird später noch zurückzukommen sein. An der Feststellung der größten Menge, die entfärbt wird, hat sich durch diese neuen Versuche nichts geändert.

Diskussion.

Es ist eine ebenso notwendige wie anregende Aufgabe, an den gewonnenen Ergebnissen die Reduktions-Gärungs-Theorien zu prüfen. Die

[1]) Diese gute Übereinstimmung ist offenbar zufällig, denn es ist klar, daß dieser Wert vor allem von der Konzentration des Saftes an wirksamen Stoffen abhängt. Hahn hatte wahrscheinlich einen Saft von der gleichen Konzentration.

[2]) Dies scheint in Widerspruch zu stehen mit der einleitend erwähnten Beobachtung Pfeffers, daß die Reduktion von der Gärung abhängig ist. Jedoch ist zu bedenken, daß hier mit Hefesaft gearbeitet wurde, in dem alle Zellbestandteile durcheinander gemischt sind. Die lebende Zelle hat dagegen die Fähigkeit, ungeeigneten Stoffen den Eintritt zu wehren.

quantitativen CO_2- und Alkoholbestimmungen hatten ergeben, daß der Schwefel und das TeO_2 nicht im Sinne des Grüßschen Versuches und seiner Theorie eine Änderung des Gärungsquotienten hervorzubringen vermögen, oder daß, wenn eine Änderung stattfindet, diese innerhalb der Versuchsfehlergrenzen fallen würde. Die eigenartigen Änderungen des Gärungsquotienten bei Verwendung verschiedener Trockenhefen sind schon im Anschluß an diese Versuche selbst hinlänglich erörtert worden.

Die Bestimmungen des Reduktionsproduktes geben uns nun das Material an die Hand, mit dem man berechnen kann, inwieweit eine Beeinflussung der Gärungsquotienten durch die reduzierbaren Stoffe im Sinne der Grüßschen und der Kostytschewschen Theorie überhaupt möglich ist. Fassen wir zunächst die erstere ins Auge, so ergeben sich die erforderlichen Beziehungen nach den folgenden Gleichungen (diese sind zusammengezogen, da es für die Rechnung gleichgültig und einfacher ist):

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O = 6\,CO_2 + 24\,H$$
$$2\,C_6H_{12}O_6 + 24\,H = 6\,C_2H_5OH + 6\,H_2O.$$

Es müssen also, wenn 6 g Mol. Alkohol weniger gebildet werden sollen, 24 g-Atome H durch den reduzierbaren Stoff oxydiert bezw. von ihm aufgenommen werden. Wenn 4 g-At. H verbraucht werden, müßte 1 g Mol. Alkohol weniger produziert werden. Bei der Kostytschewschen Theorie, die durch die Gleichungen

$$C_6H_{12}O_6 + R = 2\,CH_3 \cdot CO \cdot COOH + RH_4 \qquad \text{I.}$$
$$2\,CH_3 \cdot CO \cdot COOH = 2\,CH_3 \cdot COH + 2\,CO_2 \qquad \text{II.}$$
$$2\,CH_3 \cdot COH + RH_4 = 2\,CH_3 \cdot CH_2OH + R \qquad \text{III.}$$

versinnbildlicht wird, gibt 1 g mol. Glukose 4 g At. H ab, wodurch 2 g mol. Alkohol weniger gebildet wurden. Also schon durch die Wegnahme von 2 g At. H müßte die Bildung von 1 g mol. Alkohol unterdückt werden. Der Unterschied kommt dadurch zustande, daß Kostytschew als Äquivalent für die verringerte Alkoholbildung die Entstehung von Azetaldehyd annimmt, während bei Grüß der Zucker selbst bez. seine Atomgruppen, die durch die abgelenkten H nicht mehr angegriffen werden können, nun normal wieder vergoren werden können, unter Bildung von CO_2 und Alkohol. Es wird also kein Nebenprodukt angenommen.

Die Reduktion der in Betracht kommenden reduzierbaren Stoffe geschieht nach folgenden Gleichungen:

$$S + H_2 = SH_2,$$
$$Na_2S_2O_3 + H_2 = Na_2SO_3 + H_2S.$$
$$\text{Methylenblau} + H_2 = \text{Leukomethylenblau}$$
$$TeO_3 + 3\,H_2 = 3\,H_2O + Te.$$

Bei der Reduktion von S und Methylenblau werden durch ein Mol 2 g At. H, bei der Reduktion von Tellursäure 6 g At. H oxydiert.

Daraus folgt, daß nach	Grüß	Kostytschew
bei der Red. von 1 g mol. Methylenblau	$^1/_2$ g Mol	1 g Mol Alk.
„ „ „ „ 1 g „ Tellursäure	$^3/_2$ g „	3 g „ „
weniger gebildet werden würden.		
355,7 g Methylenblau verrmindern also den Alkohol um	$\frac{46}{2} = 23$	46 g
Bei der Reduktion von 32,07 g S, bez. der Entstehung von 34,09 g SH_2 würden weniger gebildet	$\frac{46}{2} = 23$	46 g
Die Bildung von 127,5 g Tellur geschieht auf Kosten von	$\frac{3 \cdot 46}{2} = 69$	$3 \cdot 46 = 138$ g „

Nun waren die maximalen Mengen an Reduktionsprodukten, bezogen auf 10 ccm Hefesaft, beobachtet worden zu:

0,003 g SH_2 aus S, 0,008 g SH_2 aus $Na_2S_2O_3$
0,142 g Leukomethylenblau
0,0119 g Te.

Durch diese Mengen müßte, wie sich aus den einfachen stöchiometrischen Gleichungen ergibt, die Alkoholbildung

	nach Grüß	nach Kostytschew
bei S	um 0,002 g	um 0,004 g
„ $Na_2S_2O_3$ . .	„ 0,0005 g	„ 0,001 g
„ Methylenblau	„ 0,009 g	„ 0,018 g
„ Tellursäure .	„ 0,006 g	„ 0,012 g

deprimiert werden.

Aus dieser Berechnung geht hervor, daß die Alkoholmengen, die nach der Grüßschen Theorie bei Zusatz reduzierbarer Stoffe weniger hätten gebildet werden müssen, nur sehr gering sind, am geringsten beim Schwefel und beim Natriumthiosulfat. Hier liegt der berechnete Wert vollständig innerhalb der bei den Gärversuchen auftretenden

Versuchsfehlergrenzen. Wenn man annehmen darf, daß bei den Grüßschen Versuchen die CO_2-Menge dieselbe gewesen ist, so würde dies auf einen beträchtlichen Unterschied zwischen der lebenden und der toten Hefe hindeuten. Sicher steht fest, daß bei der zellfreien Gärung, der S und das $Na_2S_2O_3$ nur unbeträchtlich auf das Verhältnis der Gärungsprodukte im Sinne der Grüßschen Theorie einwirken können. Das gleiche gilt auch für die Berechnung nach dem Kostytschewschen Schema.

Auch bei der Tellursäure würde ein derartiger Einfluß kaum mit Sicherheit zu erkennen sein. Der Reduktionswert ist auch hier sehr gering, besonders wenn man bedenkt, daß eine weit höhere Menge zugesetzt war und in den Gärungsprozeß hätte eingreifen können. Am größten ist die Alkoholmenge, die bei Zusatz von Methylenblau weniger hätte gebildet werden müssen. Hier hätte sie, namentlich bei Berücksichtigung der Kostytschewschen Theorie bei quantitativen CO_2- und Alkoholbestimmungen schon deutlich zutage treten müssen. Wegen der stark gärungshemmenden Wirkung des Methylenblaus wurde aber ein solcher Versuch nicht ausgeführt[1]).

Bei der obigen Berechnung waren die ganzen reduzierten Mengen in Rechnung gestellt worden. Es ist aber fraglich, ob man die ganzen Mengen auf das Konto der Gärung setzen darf, da ja auch ohne Gärung, wie die Versuche mit Tellursäure deutlich zeigen, erhebliche Reduktion eintritt. Es wäre aber auch nicht richtig, die dabei gefundene Menge von dem bei der Gärung reduzierten Te abzuziehen, da es nicht unmöglich ist, daß in dem sich selbst überlassenen Safte andere Prozesse sich auslösen können, die mit der Gärung nichts zu tun haben, und die bei stattfindender Gärung vielleicht gar nicht eintreten können. Noch eigenartiger ist es beim Methylenblau, von dem durch den nichtgärenden Hefesaft genau soviel entfärbt wird, wie durch solchen, der sich infolge

[1]) S. Lvoff hat in seiner weiter unten noch angeführten neuesten Arbeit (S. Lvoff, Hefegärung und Wasserstoff, Z. f. Gärungsph. **3**, 1913, S. 289) die mir erst nach Abschluß meiner experimentellen Studien in die Hände gelangte, einige Versuche mit „Trockenhefe" und „Hefanol" mit und ohne Zusatz von Methylenblau ausgeführt und dabei für die Gärungsquotienten $\frac{C_2H_5OH}{CO_2}$ folgende Werte ermittelt:

ohne Methylenblau (356 bis 1112 mg)	Mittel:
0,90; 0,94; 0,92; 0,94; 0,92; 0,91; 0,96; 0,97:	0,93
mit Methylenblau	
0,96; 0,91; 0,95; 0,95; 0,87; 0,97; 0,89; 0,93:	0,93

Es ist also kein Unterschied bei und ohne Zusatz von Methylenblau.

von Zuckerzusatz in Gärung befindet. Hier bliebe, wenn man einmal abziehen wollte, für die Gärung gar nichts übrig. Es liegen also bei der Reduktion des Methylenblaus ohne Zuckerzusatz ganz besondere Verhältnisse vor. Über diese Verhältnisse können Untersuchungen einigermaßen Aufschluß bringen, wie sie neuerdings Lvoff (loc. cit.) ausgeführt hat. Dieser arbeitete, um die Gärung — auch die „Selbstgärung“ — nach Möglichkeit auszuschließen, mit Mazerationssaft, den er durch lange Filtrationsdauer glykogenfrei gemacht hatte. Methylenblau wirkte auf diesen Saft ein unter Freisetzung einer dem Methylenblau äquivalenten Mehrbildung (gegenüber dem Saft ohne Methylenblau) an CO_2. Diese Tatsache veranlaßte mich, einen entsprechenden Versuch mit Tellursäure auszuführen, zumal da beim früheren Selbstgärungsversuche ein ähnliches Verhalten gefunden, aber wegen der geringen Menge CO_2 nicht beachtet worden war. Es wurden mit je 50 ccm Hefesaft, der durch langes Mazerieren[1]) der verwendeten Trockenhefe nahezu glykogenfrei erhalten wurde, folgende Versuche angesetzt, wobei die CO_2 durch Gewichtsverlust unter Luftdurchleiten am Schluß bestimmt wurde.

(Kolben zu 150 ccm, Gäraufsatz wie sonst!) Dauer 4 Tage.

Versuch Nr.	Tellursäure	CO_2 g	Te mg
155	—	0,0125	—
156	0,5735	0,028	19,5

In der Tat war auch hier, wenn auch nicht in äquivalentem Verhältnis, bei Tellursäure mehr CO_2 gebildet worden. Bei der alkoholischen Zuckergärung wirken sowohl Tellursäure als Methylenblau hemmend, hier tritt das Entgegengesetzte ein. Es erheben sich daher Zweifel, ob die CO_2 überhaupt einer alkoholischen Gärung entstammt. Bei einem weiteren Versuch hat Lvoff auch den Alkohol bestimmt und gefunden, daß die Mehrbildung an CO_2 nicht von einer entsprechenden Alkoholbildung begleitet ist. Er schließt deshalb auf eine Vergärung der Eiweißabbauprodukte (Aminosäuren), ohne jedoch die letzte Konsequenz aus diesem Schluß zu ziehen, daß nämlich der sich abspielende Vorgang mit der alkoholischen Gärung, auch mit der sogen. „Selbstgärung“ nichts mehr zu tun hat, sondern dem proteolytischen Prozeß der ebenfalls im Hefesaft vorhandenen Endotryptase („Autolyse“) zuzuschreiben ist.

[1]) Längere Mazeration bei 25° erschien zur Vergärung des Glykogens vorteilhafter als lange Filtration bei 0°.

Damit ist erwiesen, daß das Reduktionsvermögen des Hefesaftes nicht einheitlicher Natur ist, und daß mindestens zwei verschiedene Vorgänge Reduktionserscheinungen veranlassen können. In welchem Maße nun proteolytische Prozesse während der Gärung vor sich gehen, läßt sich nicht sicher entscheiden. Wahrscheinlich ist, daß bei hohem Zuckerzusatz der proteolytische Vorgang stark zurückgedrängt wird und daß dieser um so stärker ist, je weniger Zucker zugesetzt wird. Wenn also auch eine quantitative Abgrenzung nicht möglich ist, so läßt sich doch immerhin sagen, daß nicht die ganze Menge der Reduktionsprodukte auf den der Gärung parallel gehenden Vorgang entfällt.

Weiter geht aber aus diesen Überlegungen hervor, daß selbst dann, wenn einmal tatsächlich bei einem Versuch mit reduzierbarem Stoff eine Minderbildung an Alkohol bezw. Mehrbildung an CO_2 gefunden würde, dies noch keinen Beweis für die Richtigkeit der Grüßschen Theorie bedeuten würde, da ja der Überschuß an CO_2 die Folge einer Einwirkung des reduzierbaren Stoffes auf den proteolytischen Prozeß der Endotryptase sein kann.

Man muß sich immer vergegenwärtigen, daß durch den Zusatz eines reduzierbaren Stoffes, also eines Oxydationsmittels veränderte Reaktionsbedingungen geschaffen werden. Es können Vorgänge ausgelöst werden, die unter normalen Umständen nicht eintreten würden.

Betrachtet man die Erscheinungen unter diesem Gesichtspunkt, so ist es ja leicht denkbar, daß bei solchen komplizierten Vorgängen, wie der Vergärung des Zuckers und dem Abbau des Eiweißes, Stoffe entstehen, die sonst normal weiter verarbeitet werden, aber durch einen reduzierbaren Stoff oxydiert werden können.

Die geringen Mengen der Reduktionsprodukte beweisen, daß solche Oxydationen immerhin nur in geringem Maße auftreten. Sie sind von untergeordneter Bedeutung[1]).

---

[1]) Es wäre auch denkbar, daß diese geringe Vermehrung der Kohlensäure durch eine direkte Wirkung des Oxydationsmittels auf den Zucker zustande kommt, wodurch ersteres eben reduziert würde. Diesbezügliche Versuche, die in Reagenzgläsern mit Zuckerlösung bei 25° und 37° ausgeführt wurden, ergaben, daß in neutraler Lösung bei Tellursäure und Methylenblau keine Reduktion stattfindet. Schwefelwasserstoff wurde allerdings nach 2—3 Tagen in geringem Maße gebildet; jedoch ist dies nicht verwunderlich, da auch Wasser allein ohne Zusatz von Zucker diese Reaktion gibt. Bei höherer Temperatur (längeres Erhitzen auf 100°) wird auch Tellursäure durch Glukoselösung schwach reduziert. Bei den für die Gärung in Betracht kommenden Temperaturen findet aber keine direkte Wirkung der in Betracht gezogenen reduzierbaren Stoffe auf den Zucker statt.

Es bleibt noch übrig, an der Hand der gewonnenen Ergebnisse zu den Vorstellungen über die Natur der in der Hefe vorkommenden reduzierenden Stoffe Stellung zu nehmen.

De Rey-Pailhade[1]) sprach seinem „Philothion" einen fermentartigen Charakter zu auf Grund der Tatsache, daß die Fähigkeit des alkoholischen Extraktes, Schwefel zu reduzieren, durch zweistündiges Erhitzen auf 70° und durch Kochen aufgehoben wird und daß ein Optimum bei 35—40° vorhanden ist. Abelous und Ribaut[2]) traten dem entgegen, indem sie sich auf Versuche beriefen, nach denen aus Hefe gewonnene Extrakte bei 100, selbst bei 120—130° noch imstande waren, die Reduktion des Schwefels zu veranlassen. Dabei zeigte sich eine dauernde Zunahme an H_2S bei steigender Temperatur. Der Widerspruch zwischen diesen beiden Resultaten ist nur scheinbar, wenn man erwägt, daß in dem einen Falle (de Rey-Pailhade) der alkoholische Extrakt für sich auf die betreffenden Temperaturen erhitzt und dann mit Schwefel zusammengebracht wird, im anderen Falle aber (Abelous und Ribaut) die Extrakte mit Schwefel zusammen erhitzt werden[3]). Dann findet infolge der allgemeinen Beschleunigung chemischer Vorgänge bei höherer Temperatur und der Eigenschaft des Schwefels, das Wasser zu zersetzen, natürlich eine stetige Zunahme an H_2S mit steigender Temperatur statt. Die Versuche von Abelous und Ribaut sind also nicht geeignet, gegen die Annahme eines Reduktionsfermentes zu zeugen.

Dagegen führt Hahn[4]) als Grund hier an, daß die Reduktion des Schwefels durch Erhitzen des Hefesaftes auf 65° zwar beeinträchtigt, aber nicht aufgehoben wird. Hahn macht nun aber einen Unterschied zwischen der Reduktion des Schwefels und der des Methylenblaus, indem er aus der erheblich verlängerten Reduktionsdauer[5]) und dem Auftreten eines Optimums bei 40° schließt, daß die Reduktion des Methylenblaus durch ein Ferment bewirkt werde, genau so wie die Gärung durch die Zymase.

---

[1]) Comptes Rendus **106**, 1888, S. 1683; Bull. soc. chim., 3. Ser., T. **31**, S. 987.

[2]) Comptes Rendus **137**, S. 95, 268.

[3]) Wenigstens glaube ich aus den Angaben von Abelous und Ribaut dies herauslesen zu können, obzwar es nicht ausdrücklich gesagt ist.

[4]) Buchner u. Hahn, Zymasegärung, S. 342, 343.

[5]) Es erscheint fraglich, ob man überhaupt aus der verlängerten Reduktionsdauer unbedingt auf eine Veränderung des Reduktionswertes schließen kann. Die Reduktionsdauer ist das reziproke der Reduktionsgeschwindigkeit und diese muß durchaus nicht dem Reduktionswert proportional sein.

Grüß[1]) hält die Redukase (Hydrogenase, Philothion) mit einer gewissen Einschränkung für identisch mit der Zymase, für welche Anschauung keine Anhaltspunkte gefunden werden konnten.

Palladin nimmt ebenfalls an, daß die Reduktion von Methylenblau und von Na-Selenit durch eine Reduktase hervorgerufen wird, die auch am Gärungsprozeß beteiligt sei. Er schließt letzteres daraus, daß bei der Gärung (Zymin) die Reduktion des Methylenblaus und des Selenits ausbleibt bezw. geringer ist. Demgegenüber wurde oben durch genaue Bestimmungen des Te gezeigt, daß dies bei der Gärung mit Hefesaft nicht der Fall ist, daß im Gegenteil die Menge des Reduktionsproduktes mit fortschreitender Gärung zunehmend größer wird.

Wenn hier von einem Ferment „Redukase" die Rede ist, so kann natürlich nur eine „Oxydoredukase" gemeint sein, deren Funktion es ist, geeigneten Stoffen Sauerstoff zu entreißen und auf andere Stoffe zu übertragen[2]), beziehentlich — was dasselbe ist — Wasserstoff in umgekehrter Richtung zu transportieren, wobei nicht ausgeschlossen ist, daß die Ionen des Wassers an der Reaktion beteiligt sind. Eine einseitig wirkende „Redukase" wäre als Ferment undenkbar, da sie ja durch den Sauerstoff abgesättigt werden mußte und damit ein wichtiges Kriterium für den Begriff eines Katalysators, unter den ja die Fermente fallen, nicht gegeben sein würde. Es müssen also in dem Hefesaft Stoffe vorhanden sein, die mit Hilfe der Oxydoredukase durch die zugesetzten Oxydationsmittel (Tellursäure, Methylenblau, Schwefel) oxydiert würden.

Es drängt sich die Frage auf, ob man bei den geringen Reduktionswerten überhaupt genötigt ist, einen übertragenden Körper anzunehmen oder ob man nicht vielmehr an eine direkte Wirkung denken soll. Die Langsamkeit der Reaktion und das Fortschreiten mit der Zeit ist nichts spezifisch fermentartiges, ebensowenig die Thermolabilität und die Empfindlichkeit gegen andere chemische und physikalische Einflüsse. Dagegen ist aber ein strenges Kriterium für Fermentwirkungen die Spezifität derselben. Zymase wirkt nur auf Hexose, Invertase nur auf Disaccharide usw. Hier werden aber alle möglichen Stoffe reduziert, es ist keine spezifische

---

[1]) Wochenschr. f. d. ges. Brauwesen **27**, 1904.

[2]) Einen solchen Vorgang stellt die Schardingersche Reaktion vor: Aldehyd + Methylenblau — Oxydoredukase in der Milch → Leukomethylenblau + Säure.

Wirkung vorhanden. Auch dies ist ein Argument, das gegen die Wirkung eines Fermentes spricht.

Am ehesten noch denkbar wäre, daß es sich um eine gekoppelte Reaktion handelt, bei der eine andere Reaktion — in diesem Falle also die alkoholische Gärung oder der proteolytische Vorgang — die Rolle des Katalysators übernimmt.

Wahrscheinlicher ist aber, aus allen oben angeführten Gründen, besonders wegen des geringen Umfanges der Reaktion, daß im Hefesaft gewisse labile Stoffe vorhanden sind oder während der stattfindenden Vorgänge entstehen, die durch die einwirkenden reduzierbaren Stoffe oxydiert werden.

Analoga für solche labile Stoffe fand Heffter[1]) in den Sulfhydryl- oder SH-Gruppen enthaltenden Verbindungen: Cystein, Thioglykolsäure und Thiomilchsäure, die nicht nur Schwefel, sondern auch die Farbstoffe, Selen- und Tellurverbindungen reduzieren.

Anhang.

Bemerkungen über die Darstellung reiner Tellurpräparate und die Bestimmung des Tellurs, insbesondere aus Hefeflüssigkeiten.

Darstellung von Tellursäure.

Die Darstellung möglichst reiner Tellurpräparate machte sich erforderlich zur Herstellung einer Tellurit-Tellurat-Elektrode, deren EMK zum Zweck der quantitativen Verfolgung biologischer Reduktionen gemessen werden sollte.

Als Ausgangsmaterial wurde Te in Stangen von Kahlbaum verwendet. Zur Darstellung der Tellursäure, die sich besonders gut durch Umkristallisation reinigen läßt, empfiehlt Gutbier[2]) das Staudenmaiersche Verfahren, welches darin besteht, daß das in Salpetersäure gelöste Te mit Chromsäure oxydiert wird.

Was die Ausführung dieser Methode betrifft, so wurde nach längeren ungünstigen Resultaten das folgende, nach den Angaben von Gutbier, Koethner[3]) und Horváth[4]) kombinierte Verfahren angewendet.

In HNO_3 vom spez. Gewicht 1,255 und von der Temperatur 50 bis 70° wird das möglichst fein gepulverte Tellur in kleinen Anteilen

[1]) A. Heffter, Die reduzierenden Bestandteile der Zellen. Medin.-naturwissenschaftl. Archiv **1**, 1908, S. 81.

[2]) Zeitschr. f. anorg. Chem. **32**, 1902, S. 99.

[3]) Liebigs Ann. **319**, 1901, 1.

[4]) Zeitschr. f. anorg. Chem. **70**, 1911, S. 408.

unter Umrühren eingetragen (Koethner), wobei jedesmal mit der neuen Zugabe gewartet werden muß, bis die Teilchen gelöst sind. Je feiner das Te gepulvert ist, um so schneller geht die Lösung unter Entwicklung von braunen Stickoxyddämpfen vor sich. Auf diese Weise löst sich, sofern nur die Temperatur eingehalten wird, ziemlich viel Te. Sobald aber grauweiße Teilchen in der Flüssigkeit ungelöst bleiben, muß durch ein Filter in ein größeres Gefäß abgegossen und die Operation mit neuer erwärmter Salpetersäure fortgesetzt werden. Es ist streng zu vermeiden, daß die Temperatur über 70° steigt, da dann TeO_2 in größeren Mengen ausgeschieden wird, die nur schwer und sehr langsam wieder in Lösung gebracht werden können.

Die gesammelten Lösungen werden nun zum Sieden erhitzt und mit einer verdünnten schwefelsäurefreien Chromsäurelösung, die eine nach der Reaktionsgleichung

$$3\,TeO_2 + 2\,CrO_3 + 9\,H_2O = 3\,H_6TeO_6 + Cr_2O_3$$

berechnete Menge CrO_3 (also auf 1 g Te ca. 0,53 g Chromsäure) enthält, langsam, unter Umrühren versetzt. Hierauf wird ½ Stunde zum Kochen erhitzt und dann in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad eingedampft (Gutbier). Es empfiehlt sich, die Flüssigkeit nicht ganz einzudampfen, da sich sonst, namentlich wenn zuviel CrO_3 zugegeben wurde, eine sirupöse Masse ergibt, sondern die etwa bis auf ¼ eingedampfte, schmutzigbraun-grüne Lösung mit der dreifachen Menge rauchender Salpetersäure zu versetzen und über Nacht stehen zu lassen. Dann scheidet sich am Boden ein dichter Kristallkuchen ab, von dem die überstehende Flüssigkeit abgegossen und eventuell weiter eingedampft wird. Die Kristallmasse wird mit einem Glasstab zerrieben und im Goochtiegel abgesaugt. Zur Reinigung wird die konzentrierte Lösung mit einigen Tropfen Alkohol (zur Reduktion des überschüssigen CrO_3) und der vierfachen Menge rauchender HNO_3 unter Eiskühlung allmählich versetzt (Gutbier). Nach 4—5 maliger Durchführung dieser Operation wird die Tellursäure in der geringstmöglichen Menge Wasser gelöst und zur weiteren Reinigung in einer Kristallisierschale bei ca. 45° der langsamen Kristallisation ausgesetzt. In einigen Tagen scheiden sich große schöne Kristalle ab, die zerstoßen, abgesaugt und bei 90° getrocknet werden. Diese Operation wird einmal wiederholt.

Aus der auf diese Weise gewonnenen reinen H_6TeO_6 (Analysen s. folg. Seite) wurde nun durch einfaches Glühen im Pt-Tiegel TeO_2 hergestellt. Die Salze der beiden Säuren wurden nur in Lösung hergestellt und zwar durch Auflösen der TeO_2 in der entsprechenden Menge kohlensäurefreier NaOH, wobei, um das Tellur in Lösung zu halten, ein Über-

schuß an NaOH angewendet wurde. Bei längerem Aufbewahren zersetzten sich jedoch auch dann die Lösungen infolge von Hydrolyse.

Die aus gleichen Teilen von TeO_2 und TeO_3, in NaOH gelöst, hergestellte Elektrode wurde gegen eine alkalische Normalelektrode (Hg-HgO-$\frac{n}{10}$ NaOH) gemessen unter Durchleiten von N (zur Rührung) bezw. H. Es konnten aber, besonders beim Durchleiten von Wasserstoff keine konstanten und reproduzierbaren Werte erhalten werden. Ebensowenig war es ja Le Blanc[1]) möglich, bei der Messung einer Te-Telluritelektrode zu konstanten Werten zu gelangen.

Quantitative Bestimmung des Tellurs.

Für die genaue Analyse von Tellurverbindungen liegen zwei Methoden vor, die eine von Browning und Feint[2]) die andere von Horváth[3]). Bei der ersteren wird das Te aus einer Lösung von tellurigsaurem Salz durch Neutralisieren als TeO_2 ausgeschieden, getrocknet und gewogen. Diese Methode möchte infolge ihrer Einfachheit den Vorzug verdienen. Es wurde eine Probe des Kahlbaumschen Na-Tellurits in KOH gelöst, mit HCl angesäuert und mit siedend heißem H_2O auf 200 ccm aufgefüllt, dann nach Vorschrift wenig Ammoniak zur Neutralisation und die zur Ansäuerung geringstmögliche Menge Essigsäure unter ständigem Umrühren hinzugegeben. Der kristallinische Niederschlag wurde im Goochtiegel gesammelt, gewaschen und getrocknet. Auf diese Weise wurden Na_2TeO_3 und Tellursäure von Kahlbaum, letztere, nachdem sie durch Glühen in TeO_3 übergeführt war, ferner das selbst hergestellte TeO_2 analysiert. Die Analysen ergaben folgendes Resultat:

	Angewandte Substanzmenge	Glühprodukt TeO_2	TeO_2 berechn.	TeO_2 gef.	Differenz
	$Na_2TeO_3 \cdot 5H_2O$				
1	0,1390	—	0,0712	0,0700	—0,0012
2	0,2602	—	0,1332	0,1323	—0,0009
	Tellursäure				
3	0,3394	0,2347	0,2358	0,2300	—0,0058
4	0,3179	0,2202	0,2209	0,2105	—0,0104
	TeO_2				
5	0,2155	—	—	0,2022	—0,0133

[1]) Le Blanc, Zwitterelemente II. Z. f. Elektrochemie **12**, 652.
[2]) Z. f. anorgan. Chemie **64**, 1909, S. 104.
[3]) Z. f. anorgan. Chemie **70**, 1911, S. 409.

Die Analysen zeigen fast durchgängig einen mehr oder minder großen Verlust an TeO_2, was auch unmittelbar dadurch nachgewiesen werden konnte, daß das Filtrat mit $SnCl_2$ stets eine Dunkelfärbung oder Fällung ergab, das eine Mal stärker, das andere Mal schwächer. So erwies sich die Methode von Browning und Feint durchaus nicht als sicher.

v. Horváth geht von der Tellursäure aus, löst sie in Wasser, säuert sie mit HCl schwach an, erhitzt zum Sieden und sättigt die siedende Lösung mit SO_2, worauf er sie 24 Stunden an einem warmen Ort stehen läßt, dann auf einem abgewogenen Filter filtriert, trocknet nud wägt. Bei der Prüfung dieser Angaben zeigte sich, daß die Ausscheidung des Te ganz unvollständig war, wie ja v. Horváth selbst zugibt, der deshalb die Fällung im Filtrat noch einmal vornimmt. Da dies zu umständlich und langwierig erschien, wurden verschiedene Versuche unternommen in der Absicht, die Ausscheidung sofort zu einer vollständigen zu machen. Bei einer Analyse von TeO_2 zeigte sich zunächst, daß dieses viel leichter und schneller gefällt wurde, als die Tellursäure, die ja erst durch Salzsäure zu Dioxyd reduziert werden muß. Die dem TeO_2 zugesetzte Salzsäure schien jedoch immer noch eine gewisse Menge von Te in Lösung zu halten. Deshalb wurde allmählich mit NH_3 neutralisiert. Die erzielten Resultate befriedigten noch nicht, da die Ausscheidung des Te erst nach längerem Stehen unter SO_2 vollständig wurde und zum Teil als feiner, schwer zu entfernender Überzug an der Glaswand haften blieb.

Herr Prof. Böttger machte mich darauf aufmerksam, daß die Reaktion vielleicht durch Kupfersulfat katalytisch beschleunigt werden könne.

$CuSO_4$ wirkt ja bei vielen Reaktionen als Katalysator und besonders, wie von L. Meyer und Binnecker festgestellt und von Titoff[1]) quantitativ untersucht wurde, bei der Oxydation von SO_2 durch O. In der Tat konnte auch festgestellt werden, daß bei der vorliegenden Oxydation von SO_2 durch den TeO_2-Sauerstoff ebenfalls $CuSO_4$ seine beschleunigende Wirkung ausübt. Minimale Spuren von $CuSO_4$ machten die Ausscheidung sogleich vollständig.

Noch ein Übelstand war zu beseitigen: die von v. Horváth beobachtete Oxydation des frisch gefällten Tellurs. v. Horváth trocknet das Te bei 105° 2 Stunden lang. Es galt sowohl die Zeit, als auch die Temperatur zu vermindern. Dies wurde erreicht durch Nachwaschen mit Alkohol und wasserstoffsuperoxydfreiem, frisch destilliertem Äther.

---

[1]) Titoff, Beiträge zur Kenntnis der negativen Katalyse im homogenen System. Diss. Leipzig. 1903.

Mehrfache Wiederholung dieser Operation zeigte, daß weder, wie vermutet werden konnte, durch Alkohol Te gelöst, noch durch Äther oxydiert wurde. Das Trocknen konnte in kurzer Zeit bei mittlerer Temperatur geschehen. Um endlich die Gefahr einer Oxydation während des Filtrierens ganz auszuschließen, wurden die Operationen in einer Leuchtgasatmosphäre vorgenommen und in das Waschwasser vorher eine Zeit lang Leuchtgas eingeleitet. Auf Grund dieser Versuche und Erfahrungen bin ich zu folgender Bestimmung des TeO_2 als Te gekommen: ca. 0,2 g TeO_2 werden in einem verschließbaren Erlenmeyer unter Erwärmen in 2 ccm konz. HCl (d = 1,2) gelöst und mit 2 ccm einer $5 \cdot 10^{-4}$ mol. $CuSO_4$-Lös. (0,1249 g $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$ in 1 L) und 15 ccm H_2O versetzt. Hierauf wird zum Sieden erhitzt und unter ständigem Erwärmen auf dem Wasserbad ein langsamer Strom von SO_2 eingeleitet. Nach einiger Zeit wird durch einen Tropftrichter ganz allmählich soviel NH_3 in verdünnter Lösung zugegeben, als zur Neutralisation der HCl erforderlich ist. Dann läßt man unter fortwährendem Einleiten von SO_2 erkalten und im gut verschlossenen Kolben 1 Stunde stehen. Der erhaltene tiefschwarze und körnige Niederschlag wird nun auf einem mit Alkohol und Äther gewaschenen, bei 40—50° getrockneten und gewogenen Neubauer-Pt-Tiegel in einer Leuchtgasatmosphäre abgesaugt und zunächst mit leuchtgashaltigem Wasser, dann mit Alkohol und Äther gewaschen und bei 45—50° C im Trockenschrank 15 Min. lang getrocknet. Samt zweimaligem Wägen kann die ganze Analyse in drei Stunden durchgeführt werden.

Handelt es sich um die Bestimmung der Tellursäure, so empfiehlt es sich, diese im Porzellantiegel allmählich (um ein Verspritzen des Kristallwassers zu vermeiden) auf 150°, dann kurze Zeit hoch zu erhitzen, solange bis die ganze Tellursäure über ein braungefärbtes Zwischenprodukt (TeO_3?) in rein weißes TeO_2 übergegangen ist.

Nach diesem Verfahren wurden mit einer frisch hergestellten Tellursäure folgende Resultate erzielt:

Vers. Nr.	H_6TeO_6 gegeben	TeO_2 geglüht	Te berechnet aus H_6TeO_6	Te berechnet aus TeO_2	Te gefunden	Te △ in %
6	0,2462	0,1706	0,1368	0,1363	—	—
7	0,2092	0,1450	**0,1162**	0,1159	**0,1160**	— 0,2
8	0,2041	0,1416	**0,1134**	0,1132	**0,1136**	+ 0,2

Für die gewöhnlich zur Analyse gelangenden Mengen war also die Methode mit genügender Genauigkeit sichergestellt. Im Laufe der Unter-

suchungen stellte sich heraus, daß die durch Hefesaft ausgeschiedenen Te-Mengen erheblich geringer waren. Außerdem war beobachtet worden, daß bisweilen das abgeschiedene Te eine starke Graufärbung aufwies, also eine teilweise Oxydation stattgefunden hatte. Zur Prüfung wurde eine Reihe von Versuchen mit wenig Tellursäure ausgeführt.

Vers. Nr.	H_6TeO_6 gegeben	Te berechnet	Te gefunden	Differenz mg	% ca.
9	0,1036	0,0576	0,0582	+ 0,6	+ 1
10	0,1121	0,0623	0,0630	+ 0,7	+ 1
11	0,0201	0,0112	0,0120	+ 0,8	+ 7
12	0,1055	0,0586	0,0590	+ 0,4	+ 1
13	0,0067	0,0037	0,0042	+ 0,5	+ 15
14	TeO_2:				
	0,0482	0,0385	0,0392	+ 0,7	+ 2

Es wurde also in Übereinstimmung mit der obigen Beobachtung durchgängig zuviel Te gefunden.

Bei der Ausfällung des Te mit SO_2 war die Beobachtung gemacht worden, daß diese sehr langsam vor sich ging und daß das ausgefallene Te äußerst feinkörnig war. Je feinkörniger das Te war, umsomehr trat Oxydation ein. Es handelte sich also darum, eine schnellere und dichtere Ausscheidung des Te zu veranlassen. Meist wird dies durch Zusatz eines Elektrolyten bewirkt. Tatsächlich wurden bei Anwesenheit von NaCl etwas befriedigendere Resultate auch bei kleinen Te-Mengen gewonnen:

Vers. Nr.	H_6TeO_6 angewandt	Te berechnet	Te gefunden	Differenz mg	% ca.
15	0,0042	0,0023	0,0022	— 0,1	5
16	0,0214	0,0119	0,0119	± 0	—

Bei den Hefesaftversuchen wäre es von Vorteil gewesen, wenn die Tellursäure nicht erst durch Glühen in TeO_2 hätte überführt werden müssen, sondern direkt als Te hätte bestimmt werden können. Es wurde deshalb auch dieses Problem in Angriff genommen.

Nach Brunck[1]) wird die Tellursäure durch $Na_2S_2O_4$, Natriumhydrosulfit, reduziert. Zunächst wurde das Verhalten dieses Reduktionsmittels zu H_6TeO_6 in Lösung von verschiedener Reaktion geprüft:

[1]) Liebigs Annalen **336**, S. 296.

H_6TeO_6-Lös. + $Na_2S_2O_4$-Lös.

	in der Kälte:	beim Erhitzen:
in saurer Lös.:	—	S-Ausscheidung, SO_2- und H_2S-Entwicklung.
in neutr. „	—	Reduktion des Te, Ausscheidung.
in alkal. „	—	Zunächst Rotfärbung, dann Ausflockung einer rötlichen Gallerte, oben schwache Te-Abscheidung.

Die neutrale Lösung, in der sich reichliche Mengen Te abgeschieden hatten, wurde filtriert und das Filtrat, da es sauer reagiert, mit Na-Acetat abgestumpft, erwärmt, wobei wieder Abscheidung von Te eintrat, und nach längerem Stehen filtriert. Das Filtrat gab nach weiterem Zusatz von $Na_2S_2O_4$ und darauffolgendem Erwärmen keine neue Ausscheidung von Te. Die Reduktion war also vollständig. Aber das Tellur hatte hier nicht den tiefschwarzen Ton, sondern einen Stich ins Bräunliche. Ein quantitativer Versuch hatte folgendes Ergebnis:

Versuch Nr.	H_6TeO_6	Te ber.	Te gef.	Te
17	gegeben 0,3395 g	0,1886 g	0,1936 g	0,0050 g

Die Vermutung, daß das Te durch S verunreinigt war, bestätigte sich. Bei der Auflösung des Te in HNO_3 blieb Schwefel zurück.

In der Tat ließ sich durch Versuche feststellen, daß die Ausscheidung des S aus $Na_2S_2O_4$ nur durch Säuren erfolgt. Um eine Verunreinigung des zu fällenden Te zu verhindern, muß also die Lösung neutral sein. Abstumpfen mit Na-Acetat genügt nicht, da auch die Essigsäure das Hydrosulfit zersetzt; außerdem bilden sich, wenn die essigsaure Lösung mit Te und Hydrosulfit eine Zeitlang steht, flüchtige tellurorganische Verbindungen von unangenehmem Geruch. Zur Neutralisation wurde daher Ammoniak verwendet; ein Überschuß ist jedoch zu vermeiden, da in alkalischer Lösung die Reduktion der Tellursäure nicht vollständig ist. Es empfiehlt sich auch, nicht zu viel $Na_2S_2O_4$ zur Fällung zu verwenden, da, je mehr $Na_2S_2O_4$ vorhanden ist, umsomehr auch Gelegenheit zur Bildung von S gegeben ist. Vermutlich geht die Reaktion nach folgender Gleichung vor sich:

$$3\ Na_2S_2O_4 + H_6TeO_6 = Te + 6\ NaHSO_3.$$

Zur Fällung von 1 g Tellursäure wären demnach 2,27 g $Na_2S_2O_4$ erforderlich. Es ist aber besser, das Doppelte oder Dreifache zu nehmen, da das Präparat meist schon teilweise zersetzt ist.

Bei der Ausführung wurde schließlich auf folgende Weise verfahren:

Die wässerige Lösung von 0,2 g Tellursäure wird in einem Erlenmeyer mit Ammoniak neutralisiert und zum Sieden erhitzt. Zu der heißen Lösung gibt man unter Umschütteln eine kalte verdünnte Lösung von 1,5 g $Na_2S_2O_4$, kocht nochmals auf und läßt dann unter Erkalten absitzen. Indem man der überstehenden Flüssigkeit eine Spur von Na-Hydrosulfit zugibt, überzeugt man sich, ob die Fällung vollständig war. Ist dies der Fall, so wird unter den erwähnten Vorsichtsmaßregeln filtriert und wie sonst weiter behandelt. Bei einem Versuche wurde folgendes Resultat erhalten:

Versuch Nr.	Tellursäure	Te ber.	Te gef.	Diff.	Diff. %
18	0,1186 g	0,0659	0,06605	0,00015	0,2

Die Methode läßt sich nur anwenden, wenn die Lösung frei von Nitrat-Ion (und wahrscheinlich auch von Sulfat-Ion) ist. Cl-Ion schadet nicht. Ist Nitrat-Ion in Lösung, so ist die Fällung auch bei neutraler Reaktion unvollständig.

Für das 4 wertige Tellur schien diese Methode nicht anwendbar zu sein, da ja in neutraler Lösung Tellurdioxyd unlöslich ist und ausgefällt wird. Es zeigte sich aber, daß beim Tellurit die Lösung auch alkalisch sein kann.

Versuch Nr.	TeO_2	Te ber.	Te gef.	Diff. Te	Diff. %
19	0,1231	0,0984	0,09865	0,00025	0,25

Da bisweilen Gemische von 4- und 6 wertigem Tellur vorlagen, wurde auch versucht, die Ausscheidung derselben gemeinsam vorzunehmen. Durch Natriumhydrosulfit ist dies nicht möglich, da in neutraler Lösung, in der die Reduktion der Tellursäure stattfinden muß, das 4 wertige Tellur als Tellurdioxyd ausfällt, in alkalischer Lösung ist aber die Reduktion des 6 wertigen Tellurs unvollständig. Durch SO_2 wird Tellursäure ebenfalls nicht quantitativ reduziert.

Nun wurde versucht, die beiden Operationen: Ausfällung des 4 wertigen Te mit SO_2 und Reduktion des 6 wertigen durch Hydrosulfit in einer Portion hintereinander auszuführen. Bei dem ersten Versuch gelang es ganz gut.

Versuch 20. Geg.: 0,1368 g TeO_2 + 0,0469 g H_6TeO_6.

Te geg.	Te gef.	Diff. Te
0,1354	0,1356	+ 0,0002

Weitere Versuche zeigten aber, daß Komplikationen eintreten können. Durch das Erhitzen bei der Reduktion durch Hydrosulfit tritt häufig Oxydation des durch SO_2 reduzierten Te ein.

Später wurde durch Abdampfen mit HCl die Tellursäure in 4 wertiges Tellur übergeführt.

Die jodometrische Bestimmung[1]) der Tellursäure bewährte sich gut.

Bestimmung des Te aus Hefeflüssigkeiten.

Das durch den Hefesaft reduzierte Tellur ist im Anfang immer kolloidal gelöst, erst später, bei stattfindender Gärung wird es auf den sich ausscheidenden Eiweißstoffen absorbiert und mit diesen niedergerissen. In diesem Zustand läßt es sich mit den Eiweißstoffen leicht vom Hefesaft trennen. Die kolloidale Lösung aber, die immer dann vorliegt, wenn die Gärung unterblieben oder nur gering gewesen ist, muß erst durch Zusatz von soviel Alkohol, als nötig ist, um eine schwache Suspension von Eiweißstoffen zu erzeugen, filtrierbar gemacht werden. Zuviel Alkohol darf nicht angewendet werden, weil sonst leicht zuviel Tellursäure aus der Lösung mit in die Eiweißstoffe eingeschlossen wird.

Letztere Fehlerquelle ist bei der Weiterbehandlung der auf dem Filter befindlichen Te-haltigen Eiweißstoffe besonders zu beachten. Durch Zerdrücken der Eiweißschichten mit einem Glasstab und häufiges Anspritzen mit kaltem H_2O kann der Fehler ziemlich gering gemacht werden. Ein Kontrollversuch ohne Te, aber mit Tellursäure, bei dem in der üblichen Weise verfahren wurde, ergab qualitativ kein Te, ein anderer, bei dem ungewöhnlich viel Eiweißstoffe durch Fällung mit Alkohol niedergeschlagen worden waren, zeigte (quantitativ bestimmt) 0,4 mg Te.

Nachdem die Operation mit H_2O ca. 10 mal ausgeführt worden ist, wird mit HCl einmal auf die gleiche Weise verfahren (um einen Teil der Eiweißstoffe wegzulösen) und mit H_2O nachgewaschen. Nun wird das Te mit Salpetersäure ($d = 1,255$) gelöst, ebenfalls die etwa noch im Gärkölbchen zurückgebliebenen Te-Reste und 3—4 mal unter Zerdrücken der Eiweißstoffe, mit HNO_3, dann mit H_2O nachgewaschen.

Das Filtrat enthält nun außer dem basischen Tellurnitrat noch eine große Menge von Eiweißstoffen (Syntonine).

Alle Versuche, das Te aus der salpetersauren Eiweißlösung direkt abzuscheiden, schlugen fehl. Ebenso wenig gelang es durch Erhitzen, auch nicht unter Zusatz von NH_4NO_3, die Eiweißstoffe zn zerstören. Behandlung mit Königswasser hatte auch nicht den gewünschten Erfolg.

---

[1]) Beckurts, Maßanalyse, S. 317.

Dagegen glückte es, durch Oxydation mit $KClO_3$ und HCl die Eiweißstoffe zu zerstören. Das Filtrat wird zunächst in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad eingedampft, mit HCl abgeraucht und dann mit ca. 1 g $KClO_3$ in Lösung übergossen. Unter Bedecken mit einem Uhrglas wird konzentrierte HCl zugegeben und noch 2 mal mit HCl eingedampft. Der Rückstand, aus KCl und $TeCl_4$ bestehend, wird mit HCl digeriert, dann mit warmem Wasser aufgenommen und wie oben weiter verarbeitet. Ein Elektrolytzusatz war natürlich hier wegen der Anwesenheit von KCl unnötig. Zur Prüfung der Methode wurden abgewogene Mengen Tellurdioxyd in HCl gelöst, mit 5 ccm salpetersaurer Eiweißlösung versetzt und nach obiger Beschreibung behandelt. Das Resultat zeigt folgende Tabelle.

Vers. Nr.	TeO_2	Te ber.	Te gef.	Diff. Te
21	0,1379	0,1102	0,1104	+ 0,0002
22	0,0611 H_6TeO_6 = 0,0424 TeO_2	0,0340	0,0344	+ 0,0004

Auf Grund der Erfahrungen bei der Bestimmung der Tellursäure kann gesagt werden, daß sich für kleine Mengen eine kolorimetrische Methode, gegründet auf die kolloidale Ausscheidung des Tellurs, am besten eignen würde.

Zusammenfassung.

1. Das Reduktionsvermögen des Hefesaftes wurde an einer Reihe von reduzierbaren Stoffen geprüft.

2. Der Einfluß verschiedener leicht reduzierbarer Stoffe auf die Gärung (Kohlensäureentwicklung) wurde gemessen. Im Anfang der Gärung wirken die reduzierbaren Stoffe in mittlerer Konzentration teils stimulierend (Methylenblau), teils verzögernd (selenige Säure). Der Gärwert wird durch geringe Konzentrationen (0,001 molar) der reduzierbaren Stoffe meist schwach erhöht, bei einigen auch erniedrigt (Farbstoffe). Mittlere Konzentrationen wirken mehr oder minder stark deprimierend. In 0,1 mol. Konzentration zeigen alle reduzierbaren Stoffe einen stark positiven Hemmungswert, am wenigsten noch Tellursäure, stärker Tellurat, Thiosulfat, Methylenblau u. a. Selenige Säure und Selenit wirken außerordentlich stark hemmend.

3. Der Gärungsquotient Alkohol: Kohlensäure bleibt bei der Hefesaftgärung regelmäßig hinter dem zurück, der der idealen Gärungsgleichung entspricht. Diese Verschiebung

des Gärungsquotienten wird bewirkt durch eine Mehrbildung an CO_2, deren absoluter Wert bei Hefesaft aus derselben Trockenhefe der gleiche ist. Zur Erklärung dieser eigentümlichen Tatsache wurden verschiedene Vermutungen angeführt.

4. Bei Gegenwart von Schwefel und TeO_2, die beide die Gesamtgärung nur wenig hemmen, konnte keine die Versuchsfehler überschreitende Verschiebung des Gärungsquotienten im Sinne der Grüßschen und Kostytschewschen Theorie beobachtet werden.

5. Die Mengen des Reduktionsproduktes sind äußerst gering im Vergleich zur Gärung, namentlich beim Schwefel und Thiosulfat. Eine Verschiebung des Gärungsquotienten, wie sie das Grüßsche und Kostytschewsche Schema erfordert, ist also nur in sehr geringem Maße überhaupt möglich.

6. Besonders eingehend wurde die Reduktion der Tellursäure durch Hefesaft untersucht. Es zeigte sich, daß

a) die Menge des reduzierten Te, wie zu erwarten, von der Konzentration an Tellursäure abhängig ist,

b) die Menge des reduzierten Te umso größer ist, je stärker die Gärung war,

c) die Menge des Reduktionsproduktes mit der Zeit zunimmt, bei der Gärung sowohl als auch ohne gleichzeitige Gärtätigkeit.

7. Die Reduktionswirkung des nichtgärenden Saftes wurde zurückgeführt auf den proteolytischen Prozeß. Durch Zusatz von Tellursäure zum nichtgärenden Saft wird (was auch von Lvoff bei Zusatz von Methylenblau beobachtet worden ist) eine Vermehrung der Kohlensäurebildung bewirkt.

8. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß die Reduktionswirkungen des Hefesaftes in quantitativer Hinsicht bedeutungslose Nebenerscheinungen der alkoholischen Gärung und des proteolytischen Prozesses sind. Für die Annahme eines besonderen Reduktionsfermentes sind keine Anhaltspunkte gefunden worden.

9. In einem Anhang sind die Erfahrungen über die Bestimmung des Tellurs nach teilweise veränderten Methoden zusammengestellt.

Vorliegende Arbeit wurde im Physikalisch-Chemischen Institut der Universität Leipzig in der Zeit vom Sommersemester 1912 bis März 1914 ausgeführt.

Ich möchte nicht versäumen, Herrn Prof. Le Blanc für sein wohlwollendes Interesse herzlichst zu danken, das er mir und meiner Arbeit jederzeit entgegengebracht hat.

Herrn Prof. Böttger, der mich zur Aufnahme dieser Arbeit veranlaßte, bin ich für seine immer gern gewährte tatkräftige Unterstützung ganz besonderen Dank schuldig.

Herr Dr. Bruno Herbert Stange, geboren am 5. April 1888 zu Mulda im Erzgebirge, besuchte die Realschule zu Pirna, das Wettiner Gymnasium und die Technische Hochschule in Dresden, die Universitäten München und Leipzig, wurde im Jahre 1914 zum Doktor promoviert, war im Sommersemester 1914 als Assistent von Prof. Dr. P. Schmidt am hygienischen Institut der Universität Gießen tätig, wurde mit Kriegsbeginn zur Kriegsdienstleistung einberufen und fand am 31. Oktober 1914 beim Sturmangriff auf den Ort Le Quesnoy en Santerre bei Roye den Heldentod für das Vaterland. An Dr. Stange verliert die Wissenschaft einen begabten, fleißigen und gewissenhaften jungen Forscher.

Berichtigung.

Zur Abhandlung: H. J. Waterman „Stoffwechsel von *Aspergillus niger*, der Hefe und der Kartoffel“. Bd. 5, 1914, Heft 1.

Seite 5 Tabelle I: „Pilzsubstanz“ statt „Bildungssubstanz“.

Seite 6, Zeile 29: „daß man nicht das Leben der Hefenzellen ect.“ statt „daß man das Leben ect.“.

Seite 8, Zeile 27: „20—30°“ statt „20—40°“.

Zur Abhandlung: Orla-Jensen „Über die Milchsäurebakterien und ihre Identifizierung“. Bd. 5, 1914, Heft 1.

Seite 10, Zeile 4 von unten: „ohne nennenswerte Gasentwicklung“ statt „unter nennenswerter Gasentwicklung“.

Seite 13, Zeile 2: „$\frac{1}{2}$ %“ statt „1$\frac{1}{2}$ %“.

Referate.

Wolff, A. Zur Frage nach den Beziehungen zwischen der Bakterienflora der Milch und der Weide. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **39**, 1913, S. 411—419.

Die Mikroflora der Weidepflanzen ist deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil sie von den als Unterlage der Tiere dienenden Pflanzen direkt an das Euter und in die Milch übergehen kann. Die die Milch bitter machende Pseudomonas trifolii Huß kam häufig vor auf Gras, Heu, Getreideschrot usw.; sie wird jetzt Bact. trifolii genannt. Dieses fand sich ferner in einem die Milch bitter machenden Erdnußmehl. Auch unbewegliche und bewegliche Formen des Bact. fulvum waren nicht selten. Sie stehen dem Bact. herbicola nahe und verleihen der Milch einen unreinen Geschmack. Fluorescenten, Coli-Aërogenes-Formen sowie B. lactorubefaciens sind auf Grünfutter gleichfalls häufig anzutreffen. Löhnis.

Koch, A. Ergebnisse zehnjähriger vergleichender Feldversuche über die Wirkung von Brache, Stalldünger und Klee. Journ. f. Landw. **61**, 1913, S. 245—281.

Die Brache gab auf „mildem Lehm" (also unter Bedingungen, die nicht zugunsten dieser Kultur-Maßnahme sprachen) gleich hohe Getreide-Ernten wie Kleeanbau oder Stallmist-Düngung. Hier kommen indessen die Erträge an Klee resp. an Hackfrüchten hinzu, die bei Brachhaltung fehlen. Der Nitrat-Gehalt war im Brachland nicht besonders hoch; meist belief er sich auf ca. 1 mg pro 100 g Erde (trocken). In den 10 Jahren wurden durch die Ernten bisher 89 kg Stickstoff pro $^1/_4$ ha ausgeführt, die ca. 13 % des in den obersten 20 cm vorhandenen Vorrates an Erdstickstoff entsprechen würden. Ein Rückgang im Ertrage ist bisher nicht wahrzunehmen. Von besonderem Interesse ist ein (S. 263 besprochener) Versuch, bei dem Erde $2^1/_4$ Jahr lang im Dunkeln (zwecks Ausschlusses der Algen-Wirkung) unter Fernhaltung von Ammoniak usw. aufbewahrt wurde mit dem Ergebnis, daß ihr Stickstoffgehalt während dieser Zeit um 10 % stieg. Löhnis.

Wachtel, P. Die Wasserstoffsuperoxyd-Katalyse durch Boden. Diss. phil. Jena 1913.

Nicht die humosen, sondern die tonigen Bestandteile des Bodens sollen besonders wirksam sein. Den Mikroorganismen und Enzymen spricht Verf. jeden Einfluß ab. Alkali-Zusatz fördert, Säure-Beigabe hemmt die Katalyse. Desgleichen wirkt das Erhitzen des Bodens hemmend infolge Änderung der Kolloide. Nur Versuche mit auf chemischem Wege sterilisierter Erde sind entscheidend. Löhnis.

Schulz, Konrad. Die Verbreitung der Bakterien im Waldboden. Diss. phil. Jena 1913.

Waldhumus stellt im allgemeinen ein der Bakterien-Entwicklung wenig günstiges Substrat dar. Die Dicke der Humusschicht und der Verwitterungsgrad des Bodens wirken bestimmend auf die Höhe der Keimzahl ein. Eine den Waldboden bedeckende Grasdecke begünstigt das Bakterien-Wachstum. In den obersten 15 cm herrschen die Pilze vor, dann folgt die Mykorrhizen-Schicht und unter dem Humus, in der mineralischen Erde (speziell in den nächsten 5—10 cm) finden sich die (verhältnismäßig) meisten Bakterien vor. Löhnis.

Brown, P. E. Methods for the bacteriological examination of soils. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **39**, 1913, S. 61—73.

Verf. spricht sich erneut gegen die Verwendung von Nährlösungen und Sandkulturen aus. Allein die frische Erde sei das geeignete Medium. In ihr seien die chemischen, physikalischen und biologischen Bedingungen unverändert wie im Felde (!). Für die Ammonifikation ist Kasein das geeignetste Testmaterial (10 ccm einer 10 proz. Lösung auf 100 g Erde). Es kann in Wasser + Natronlauge gelöst im Autoklav sterilisiert werden. Löhnis.

Trancé, R. H. Das Edaphon. Untersuchungen zur Okologie der bodenbewohnenden Mikroorganismen. München (Verlag d. Deutsch. Mikrolog. Gesellschaft) 1913. 99 S. m. 35 Abb.

Verf. bezeichnet (ohne auf die von M. Wolf erhobenen Einwendungen Rücksicht zu nehmen) als „Edaphon“ die Gesamtheit aller „Geobionten“ (Bakterien, Pilze, Algen, Protozoen, Würmer und Spinnentiere), doch werden weiterhin die Bakterien nur gelegentlich mit ins Auge gefaßt. Eine größere Zahl von Erdproben wurde systematisch untersucht und es werden Listen der gefundenen Organismen mitgeteilt. Verschiedene neue Gattungen und Arten wurden (ohne nähere Beschreibnng) aufgestellt.

Weiterhin folgen Angaben über den Einfluß des Lichtes, der Temperatur, der Erdfeuchtigkeit und anderer Faktoren auf das Leben der „Geo-

bionten". Im Mai und Juni sowie im Oktober erreichte die Entwicklung der Algen, Protozoen usw. ihren Höhepunkt. Im Winter greift weitgehende Enzystierung Platz. Der „Bodenfrühling" macht sich im März geltend. Die Rhizopoden folgen den Bacillariaceen in der Entwicklung. Trockenheit wirkt wie Frost: teils kommt es zur Trockenstarre, teils zur Enzystierung. Auch auf Felsen finden sich (als „Lithobien") viel Algen, Protozoen usw. Sie beteiligen sich an der Verwitterung und Humus-Bildung. Im Mullboden sind sie häufiger als im Rohhumusboden. In Walderde herrschen die Rhizopoden vor, in Ackererde die Kieselalgen; der Wiesenboden hält die Mitte.

Ferner werden die „biocoenotischen" Verhältnisse des „Edaphon" (d. h. die Symbiosen der Erdbewohner) behandelt. Auch die Erdalgen leben z. T. saprophytisch. Und die Rhizopoden nehmen neben Bakterien, Pilzen und Bacillariaceen auch Humuspartikel auf. Rotatorien und Nematoden verhalten sich ähnlich, ebenso die Regenwürmer, deren Exkremente wiederum eine Brutstätte von allerhand Mikroben darstellen.

Abgesehen von Bakterien, aber einschließlich von Pilzsporen und Myzelien wurden an „edaphischen" Organismen pro ccm Erde gefunden:

Acker	Wiese	Garten	Wald (Mull)
50 000—100 000	75 000—100 000	30 000—100 000	100 000—150 000

Danach wird, von der Annahme ausgehend, daß sich die Durchschnittsgröße dieser Organismen auf 5 : 10 μ beläuft, berechnet, daß die auf sie entfallende lebende Masse 25 Millionen cbμ pro ccm ausmacht. Dagegen wird den Bakterien nur 0,2—2 Millionen cbμ eingeräumt; es sollen nämlich von ihnen nur 200 000 bis 2 Millionen in einer Größe von 0,3 : 1 μ pro ccm vorhanden sein. Das viel wichtigere Oberflächenverhältnis ist nicht berücksichtigt.

Löhnis.

Söhngen, N. L. Einfluß von Kolloiden auf mikrobiologische Prozesse. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **38**, 1913, S. 621—647, m. 4 Abb.

Kolloide können die mikrobiellen Umsetzungen infolge ihrer adsorbierenden Wirkung fördern. Die Mikroben wachsen (in Erde usw.) vorwiegend auf den Kolloiden. In Azotobacter-Kulturen ist die Adsorption von Stickstoff und Sauerstoff von besonderer Wichtigkeit. Sowohl diese wie andere (speziell farbstoffbildende) Bakterien wachsen sehr gut an Papier- oder Tuchstreifen, die man in die Nährlösung eintauchen läßt. Ebenso wie die Stickstoff-Bindung und die Farbstoff-Bildung wurden Essigsäure- und Alkohol-Bildung, Harnstoff-Zersetzung, Stärke-Verzuckerung, Denitrifikation und Petroleum-Oxydation bedeutend beschleunigt. Dagegen konnte die Nitrifikation in Ammon-Lösung durch die benutzten Kolloide (Blutkohle, Torf, Filtrierpapier, kolloides Eisenoxyd, kolloides Siliciumoxyd) nur unwesentlich gefördert werden.

Löhnis.

Putnam, J. J. The bacteria of Nebraska soil with special reference to the fixation of nitrogen, ammonification, denitrification in non-protein media, including observations on the reduction of nitrates by soil bacteria in general. Lincoln, Neb. (Woodruff Press) Febr. 20, 1913, 54 S., m. 5 Taf.

Von 70 Böden wurden Erdproben aus verschiedenen Tiefen entnommen und hinsichtlich ihres Keimgehalts auf Agar und in Nährlösungen geprüft. Das von Ashby in Vorschlag gebrachte Agar lieferte höhere Zahlen als Fleischagar. In Erde von einem Luzernenfelde wurden die Keime bis in 14 Fuß Tiefe nachgewiesen. Die Stickstoffbindung in Mannit-Lösung ging sehr ungleich vonstatten. Meist belief sie sich (nach 21 Tagen bei 33° pro 100 ccm) auf 4—6 mg. Gewöhnlich kam es zu einer Buttersäure-Gärung, doch war auch Azotobacter häufig. Einige Erden wurden hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber verschiedenen C-Quellen geprüft (Mannit, Sorbit, Maltose, Mannose, Lävulose, Dulcit, Arabinose, Dextrose, Galaktose, Rhamnose, Erythrit, Glyzerin, Laktat, Dextrin, Inulin und Butyrat). Die Ammoniak-Bildung war in Pepton-Lösung kräftiger als in Fleischextrakt-Lösung. Sowohl in eiweißhaltigen wie in eiweißfreien Nitrat-Lösungen scheinen denitrifizierende Bakterien lebhaft tätig gewesen zu sein; doch fehlen die erforderlichen Stickstoff-Bestimmungen. Nitrat und Nitrit wurden in Peptonlösung rasch reduziert. Von 201 Reinkulturen führten 139 Nitrat in Nitrit über. Ebenso wurden Harnstoff und Hippursäure in Peptonlösung (bei Einimpfung von Erde) schnell zersetzt. Denitrifizierende Bakterien konnten nicht isoliert werden. Löhnis.

Klöcker, Alb. Recherches sur les organismes de fermentation. II. Recherches sur 17 formes du „Saccharomyces apiculatus“. Compt. rend. du laboratoire de Carlsberg **10**, Heft 4, 1913, S. 285—347, m. 7 Taf.

Es wird zunächst eine Übersicht gegeben rücksichtlich früherer Untersuchungen über die für Sacch. apiculatus benutzten systematischen Charaktere besonders betreffend die Form und Größe der Zellen, die Sporenbildung, die Widerstandsfähigkeit gegenüber verschiedenen Temperaturen sowie das Verhalten gegenüber den Zuckerarten. Dann folgen die neuen Untersuchungen des Verf.s teils über 16 Arten, die nicht Sporen bilden und für welche er den Gattungsnamen Pseudosaccharomyces (schon im Jahre 1893 von v. Laer, obwohl nicht als systematischer Name, benutzt) vorschlägt, teils über 1 Art, welche sporenbildend ist, für welche der Name Hanseniaspora valbyensis vorgeschlagen wird.

Hinsichtlich der physiologischen und morphologischen Untersuchungen des Verf.s betreffs der nicht sporenbildenden Arten ist folgendes zu bemerken: Es gibt unter den 16 Arten mehrere (9), die im Gegensatze zu dem von E. Chr. Hansen beschriebenen Sacch. apiculatus Invertin enthalten; dieses Ferment läßt sich nicht immer in der Flüssigkeit mittels Fehlingscher Lösung

nachweisen, indem der Invertzucker ebenso schnell vergoren, als er gebildet wird; wenn aber die ausgewaschenen Zellen mit Sand zerrieben und sodann in eine 10proz. Saccharoselösung mit Toluol bei 50° C gebracht werden, wird — nach 1—2 Stunden — mittels Fehlingscher Lösung die Reaktion eintreten, falls Invertin gegenwärtig ist. Alle diese 9 Arten sind auch imstande, Maltose (obwohl in sehr geringer Menge) sowie Dextrose, Lävulose und d-Mannose zu vergären, dagegen nicht Laktose und d-Galaktose. Bei 7 der beschriebenen Arten wurde Invertin nicht gefunden; sie vergoren Dextrose, Lävulose und d-Mannose, nicht aber Saccharose, Laktose und d-Galaktose; zwei von diesen konnten sehr geringe Mengen Maltose vergären.

Untersuchungen über die Temperaturgrenzen für die Sprossung, ein sehr wichtiges Merkmal bei der systematischen Bestimmung der Arten, sowie auch Untersuchungen über die Form der Zellen in der Nähe des Temperaturmaximums für die Sprossung bei 35 resp. 33° C wurden ebenfalls vorgenommen; es zeigten sich hier oft sehr merkwürdige Umbildungen, was aus den Figuren auf den beifolgenden Tafeln (42 Phototypien nach Photographien) deutlich hervorgeht; oft waren z. B. die Zellen groß und wurstförmig bei diesen hohen Temperaturen.

Verf. behandelt danach die Systematik. Nachdem erwähnt worden ist, was frühere Verff. wie Reeß, Cienkowski, Engel, Amthor, Hansen, Will, Lindner, Beijerinck, Guilliermond mitgeteilt haben über Form der Zellen, Sporenbildung sowie auch über die neuen Namen, welche sie für die verschiedenen Arten oder Rassen vorgeschlagen haben, stellt er die Gattung Pseudosaccharomyces (Familie Torulaceae) auf und beschreibt folgende 7 Arten, die nicht Invertin bilden: Ps. apiculatus (Syn.: Sacch. apiculatus Reeß-Hansen), Ps. austriacus, Ps. africanus, Ps. corticis, Ps. Mülleri, Ps. Lindneri und Ps. germanicus, sowie 9 Arten, welche Invertin bilden: Ps. Jenseni, Ps. javanicus, Ps. malaianus, Ps. Lafari, Ps. Willi, Ps. antillarum, Ps. occidentalis, Ps. santacruzensis und Ps. indicus.

In betreff sporenbildender Formen — zum ersten Male von Beijerinck (1894) nachgewiesen — glaubten sowohl Lindner als Röhling solche gefunden zu haben; hier liegt aber offenbar ein Irrtum vor; Keimung der Sporen wurde nicht beobachtet. Verf. beschreibt eine sporenbildende Art mit hutförmigen Sporen, deren Keimung er beobachtet und abgebildet hat. Die Art verliert aber leicht die Fähigkeit, Sporen zu bilden (wie seinerzeit die Art Beijerincks), jedoch gibt Verf. eine Methode an, die Vegetationen so zu behandeln, daß sie das Sporenbildungsvermögen bewahren, indem die Sporen eingetrocknet und als Aussaat benutzt werden. Die Sporenbildung gelingt am besten bei Aussaat auf Würze-Agargelatine. Für diese Art schlägt Verf. den Namen Hanseniaspora (von Zikes verwendet) valbyensis vor. Er hat diese Art mit der Hansenschen (Ps. apic.) verglichen, um möglicherweise ermitteln zu können, inwiefern diese letztere eine asporogene Form der ersteren sei. Es stellte sich heraus, daß dies nicht der Fall ist. Besonders

muß hervorgehoben werden, daß Ps. apic. beim Stehen eine starke Haut gibt, was bei Hanseniaspora valbyensis nicht stattfindet. Falls Ps. apic. eine asporogene Form von Hanseniaspora valb. wäre, würde wohl die Fähigkeit eine Haut zu bilden zweifellos gleichzeitig mit der Sporenbildungsfähigkeit verloren gegangen sein (Versuche Hansens mit asporogenen Varietäten von Saccharomyceten).

Am Schluß ist sowohl ein ausführliches Literaturverzeichnis, wie auch eine Figurenerklärung gegeben. Just. Chr. Holm.

Owen, W. L. The occurrence of Saccharomyces Zopfii in cane syrups and variation in its resistance of high temperatures when grown in solutions of varying densities. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **39**, 1913, S. 468—483, m. 5 Fig.

In den nordamerikanischen Staaten (z. B. Louisiana) wird aus Zuckerrohr ein Sirup dargestellt, welcher in zugelöteten Metallbüchsen aufbewahrt und versandt wird. Diese werden oft durch eine im Saft auftretende Gärung zersprengt oder es wird der Deckel aufgebauscht, in welchen Fällen sie vom Käufer zurückgewiesen werden.

Eine mikroskopische Untersuchung des Saftes ergab sowohl Hefe als Bakterien, die letzteren oft überwiegend an Zahl. Der Sirup hat ein spezifisches Gewicht von 70—75° Brix, welches man als ungünstig für die Entwicklung von Hefe und Bakterien halten sollte. Die Temperatur, bei welcher der Sirup in die Behälter eingeführt wird, beträgt gewöhnlich 78° C, weshalb man nicht hätte erwarten sollen, daß die Hefe, wohl aber Bakteriensporen oder thermophile Bakterien die Ursache der Gärung sein könnten; dies war aber doch der Fall, indem nämlich weder die aeroben noch die anaeroben Bakterien nach Reinzüchtung und Überführung in sterilen Sirup Gasentwicklung zeigten, was dagegen bei der Hefe der Fall war. Die Hefezellen waren klein (Maximaldiameter 4 μ), sie ließen sich nicht auf gewöhnlichen Substraten — Rohrzucker- oder Glukose-Agar (11° Brix) — züchten, wahrscheinlich, weil sie an eine starke (70 proz.) Zuckerlösung gewöhnt waren: dagegen zeigte Nahrungs-Agar (Sirup 71,5° Brix + 2 % Agar) bei 30° C nach einigen Tagen kleine Hefenkolonien, wenn er von einem gärenden Sirup infiziert wurde. Die Hefe, welche sporenbildend war, ist der von Zopf seinerzeit in Zuckersaft gefundene Saccharomyces Zopfii Artari. In sterilisiertem Sirup (71,5° Brix) rief sie Gärung hervor und war imstande, die oben erwähnten Metallbüchsen zu zersprengen.

Es zeigte sich, daß die verwendeten Behälter bisweilen schon vorher (in der Fabrik) durch Sacch. Zopfii infiziert waren, in welchem Fall die Gärung nach einigen Tagen eintrat; wenn die Gärung dagegen von Zellen herrührte, die im Saft einer Erwärmung bis 78° C ausgesetzt worden waren, dann trat die Gärung erst nach einigen Monaten ein.

Als Resultat mehrerer Zählungsversuche wurde gefunden, daß hohe Temperaturen in Lösungen von verschiedener Stärke den Sacch. Zopfii auf verschiedene Weise beeinflussen. Von Salzen, z. B. NaCl in 20 bis 30proz. Lösung wurden nicht alle Zellen plasmolysiert; es zeigte sich also, daß Sacch. Zopfii konzentrierten Salzlösungen gegenüber eine große Widerstandsfähigkeit besitzt.

Als Resumé seiner verschiedenen Versuche stellt Verf. folgende Sätze auf:

1. Sacch. Zopfii ist aus einer großen Anzahl Proben von gärendem Sirup isoliert worden, und muß als Urheber der Umbildungen, welche dieses Produkt erleidet, angesehen werden.

2. Die Temperatur, bei welcher er getötet wird, wenn er in Sirup sowohl von höherer als von niedriger Stärke wächst, liegt viel höher als von Artari angegeben; statt 67° C ergaben die Versuche, daß er, nach einer Erwärmung von 10 Minuten bei 90° C eine schwache Gärung noch hervorrufen kann.

3. Während die Widerstandsfähigkeit der Hefe hohen Temperaturen gegenüber nicht wie erst angenommen, mit der Stärke der Flüssigkeit, in welcher sie gezüchtet worden ist, direkt variiert, scheint sie bei solchen Temperaturen ihre Gärungsfähigkeit viel länger beibehalten zu können, falls sie in dickem Sirup gezüchtet worden ist, als wenn die Züchtung in mehr verdünnten Flüssigkeiten stattgefunden hat.

4. Während Temperaturen unterhalb 70° C die fermentative Fähigkeit nicht im wesentlichen Grade zu hemmen scheinen, wenn die Hefe in verdünntem Sirup gezüchtet wird, haben diese Temperaturen dagegen bei Züchtung in dickem Sirup einen deutlich hemmenden Einfluß.

5. Daß die von der Erwärmung herrührende abgeschwächte fermentative Fähigkeit genügt, um das charakteristische Aufbauschen der Metallbüchse hervorzurufen, geht deutlich aus der Tatsache hervor, daß Behälter, die in der Fabrik infiziert und einer Temperatur von 78° C unterworfen wurden, im Laufe von 3—4 Monaten durch die Gärung zersprengt wurden.

Just. Chr. Holm.

Merz, J. L. Fehler und Krankheiten des Weines. Verlag A. Hartleben, Wien und Leipzig 1914. Preis geh. M. 3, geb. M. 3,80.

Eine kurze, recht gute und leichtverständliche Zusammenfassung der Fehler und Krankheiten des Weines, unter Hinweis auf deren Ursachen und ihre Bekämpfung, die besonders dem Praktiker auf diesem Gebiete eine rasche Orientierung, namentlich nach der theoretischen Seite, vermittelt. Im übrigen folgt der Verfasser zum großen Teile den Ausführungen Müller-Thurgaus und Osterwalders (die Bakterien in Wein und Obstwein und die dadurch verursachten Veränderungen, Jena 1913). Der Referent weicht in manchem, wie dies auch in seinem „Lehrbuch der Chemie, Bakteriologie und Technologie der Nahrungs- und Genußmittel“ zur Anschauung gebracht

wurde, von den Schlußfolgerungen Müller-Thurgaus und daher auch jenen des Verfassers ab. Erwähnt sei, daß die Fehler und Krankheiten des Weines auch vom Referenten im Jahre 1911 in seiner „Einführung in die Mykologie der Genußmittel usw." und im Jahre 1913 von K. Kroemer in der 20. Lieferung von Lafars Handbuch der Technischen Mykologie im Zusammenhang behandelt wurde, und auch schon in J. König, „Die menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, 4. Aufl., 1904", ist eine vortreffliche Zusammenfassung der einschlägigen Literatur zu finden, um nur auf einige Lücken in dem von Merz gegebenen Literaturverzeichnis hinzuweisen, in dem u. a. auch Nessler-Windisch, „Bereitung, Pflege und Untersuchung des Weines" und Babo-Mach, „Handbuch des Weinbaues und der Kellerwirtschaft" nicht hätten fehlen sollen. Das mit 18 Abbildungen gut ausgestattete Buch kann empfohlen werden.

Die einzelnen Abschnitte führen die Bezeichnung: Einleitung, Erkennung der Weinkrankheiten, der Kahm, der Essigstich, der Milchsäurestich, das Zähewerden, das Bitterwerden der Rotweine, das Umschlagen oder Brechen des Weines, der Böckser des Weines, das Mäuseln, die Mannitgärung, der schwarze Bruch, das Rahnig- oder Braunwerden, der Schimmelgeschmack, der Holz- oder Faßgeschmack, der Hefegeschmack, der Trester- oder Kammgeschmack, der Korkgeschmack, die Hochfärbigkeit der Weißweine, fremde Geruchs- und Geschmacksfehler, über Trübungserscheinungen, die Reinzuchthefe und ihre Anwendung zur sachgemäßen Gärführung sowie Umgärung kranker Weine, das Pasteurisieren und seine Anwendung zur Behandlung kranker Weine, der Eponit und seine Anwendung zur Behandlung fehlerhafter und kranker Weine, die prophylaktische und therapeutische Anwendung der flüssigen Kohlensäure bei Weinkrankheiten, die sachgemäße Behandlung der Weinfässer, die Bewertung fehlerhafter und kranker Weine. Den Schluß bilden ein kurzes Literaturverzeichnis, das als Anhang aufgenommene Weingesetz und ein alphabetisches Sachregister. Kossowicz.

Lafar, F. Die Essigsäure-Gärung. Verlag G. Fischer, Jena 1913. Preis geh. M. 2,50.

Die vorliegende Monographie über Essigbakterien ist der Sonderabdruck des gleichnamigen, jedoch später, nach der Monographie, erschienenen 19. Kapitels des Handbuches der Technischen Mykologie von F. Lafar, 20. Lieferung, 1913. Der Vermerk: Manuskript-Abschluß 1911, den dieses 19. Kapitel trägt, dürfte ein Druckfehler sein, da nicht bloß im Literaturverzeichnisse Arbeiten aus dem Jahre 1912 genannt sind, sondern solche auch im Text verarbeitet wurden. Übersicht und Zusammenhang werden dadurch manchmal gestört, daß Lafar hier wie in den übrigen Teilen seines Handbuches den Versuch macht, alle möglichen physiologischen und mykologischen Arbeiten, die seit Beginn des Erscheinens seines Handbuches, d. i. seit 1903, nach und nach zur Veröffentlichung kamen, an mehr oder weniger passender Stelle zu besprechen

bezw. zu zitieren, wenn der Hauptsache nach auch gerade ein ganz anderes Stoffgebiet behandelt wird, ein Unternehmen, das bei der Fülle neuerschienener Publikationen auf Gebieten, die in dem Handbuche seit vielen Jahren schon abgeschlossen vorliegen und schon lange veröffentlicht wurden, z. B. auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Bakteriologie, naturgemäß nicht gelingen kann und nur die Einheit der Stoffbehandlung der später erschienenen Kapitel stört. So finden wir z. B. auf S. 87 eine Art Literaturliste über Arbeiten, die sich auf das Molkereiwesen beziehen. Hierher gehören auch die Ausführungen über Saccharomycetaceen und Zygosaccharomyceten auf S. 29, während jene über Mycodermen auf S. 7 wenigstens der Namensgleichheit wegen in einem gewissen Zusammenhang mit dem eigentlichen Stoff stehen. Bezüglich der auf S. 86 angeführten Kakaogärung sei auf die dort nicht berücksichtigte, im Jahre 1912 erschienene Abhandlung von Bainbridge, Scott und Davies (Transactions of the Chemical Society, Vol. 101, 1912, S. 2210) hingewiesen, durch welche die Kakaogärung erst eine entsprechende eingehende wissenschaftliche Bearbeitung erfahren hat. Unsere Kenntnisse von den Essigbakterien haben unterdessen während und nach Erscheinen von Lafars „Essigsäuregärung" durch eine Reihe weiterer Arbeiten, wie z. B. jene von Baker, Day und Hulton, Osterwalder, dann Waterman eine wertvolle Ergänzung erfahren. Abgesehen von den gemachten Ausstellungen und dem Umstande, daß gerade manche die Praxis der Essigindustrie berührende Fragen (z. B. die Verwendung von Reinzuchten, die Essigbildner usw.) nur flüchtig oder gar nicht behandelt wurden, ist Lafars Monographie eine recht wertvolle Zusammenfassung der einschlägigen Literatur.

Kossowicz.

Klimmer, M. Veterinärhygiene. Zweite, neubearbeite und vermehrte Auflage. Verlag P. Parey, Berlin 1914. Geb. M. 15.

Referent hatte schon vor einigen Jahren Gelegenheit gehabt, in den „Monatsheften für Landwirtschaft" eine Besprechung der ersten Auflage dieses vortrefflichen Werkes zu bringen. „Grundriß der Gesundheitspflege und Fütterungslehre der landwirtschaftlichen Haussäugetiere" trägt die zweite Auflage, die gegenüber der ersten eine durchgreifende Umarbeitung zahlreicher Kapitel aufzuweisen hat, als Untertitel. Tatsächlich ist auch gerade die Behandlung der Fütterungslehre durch den Verfasser eine ganz vorzügliche und eingehende, wodurch einem bestehenden Bedürfnisse tierärztlicher und landwirtschaftlicher Kreise entsprochen wird. Die zweite, so grundverschiedene, inhaltlich überaus reiche Auflage des sehr gediegenen Werkes wird sich auch bald zahlreiche Freunde erwerben. Der erste Abschnitt bespricht unter dem Titel „die Atmosphäre", die Luftbestandteile, die physikalischen Verhältnisse der Atmosphäre, die Witterung und das Klima. Diesem Abschnitte ist ebenso wie den beiden folgenden eine Literaturübersicht angeschlossen. Der zweite Abschnitt behandelt die physikalischen und chemischen

Eigenschaften des Bodens, die Mikroorganismen im Boden und die Bodenkrankheiten, der dritte Abschnitt das Wasser (allgemeine Beschaffenheit, die hygienischen Anforderungen an Trink- und Brauchwasser, die Untersuchung und Beurteilung des Wassers, die Wasserversorgung und Wasserverbesserung) und das Tränken der Tiere (Wasserbedarf, Wasseraufnahme und Selbsttränke). Das sehr hübsch ausgestattete Werk enthält auch 207 gute Textabbildungen. Kossowicz.

Mayer, P. Bildung von Saligenin aus Salizylaldehyd durch Hefe. Biochemische Zeitschr. **62**, 1914, S. 458.

Unterhefe zeigte sich gegen Salizylaldehyd recht empfindlich. Mit einer Oberhefe (Mischrasse M des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin) konnte eine geringe Umwandlung des Salizylaldehyds in Saligenin bewirkt werden. Kossowicz.

Neuberg, C. und Kerb, J. Über zuckerfreie Hefegärungen. XVI. Zur Frage der Bildung von Milchsäure bei der Vergärung von Brenztraubensäure durch lebende Hefen nebst Bemerkungen über die Gärungsvorgänge. Biochem. Zeitschr. **62**, 1914, S. 489.

Bei der Vergärung von Brenztraubensäure durch lebende Hefen wurde keine Milchsäure erhalten. Die Bildung von Milchsäure bei der Verwendung von Hefemazerationssaft ist auf die Verunreinigung mit Bakterien zurückzuführen. Trockenhefe ist reich an Bakterien, der daraus gewonnene Mazerationssaft zeigt keine stärkere bakterienhemmende Kraft. In einer gegen M. Oppenheimer gerichteten Polemik betont Verf. die Bedeutung des Methylglyoxals als intermediäres Produkt der Hefengärung. Kossowicz.

Neuberg, C. und Welde, E. Phytochemische Reduktionen. II. Umwandlung aliphatischer Nitrokörper in Aminoverbindungen. Biochem. Zeitschr. **62**, 1914, S. 470.

Verfasser haben in einer früher erschienenen ersten Mitteilung (Biochem. Zeitschr. **60**, 1914, S. 472) die Fähigkeit der Hefe zur Reduktion aromatischer Nitroverbindungen (Reduktion von Nitrobenzol zu Anilin) nachgewiesen. In der zweiten Mitteilung berichten sie über die Feststellung der Reduktion aliphatischer Nitrokörper durch lebende Hefe, und zwar des Nitroäthans zu Äthylamin und des Nitromethans zu Methylamin. Abgetötete Hefe ergab nur Spuren eines aminartigen Produktes. Die Reduktion muß daher als eine Wirkung der lebenden Hefezelle betrachtet werden. Kossowicz.